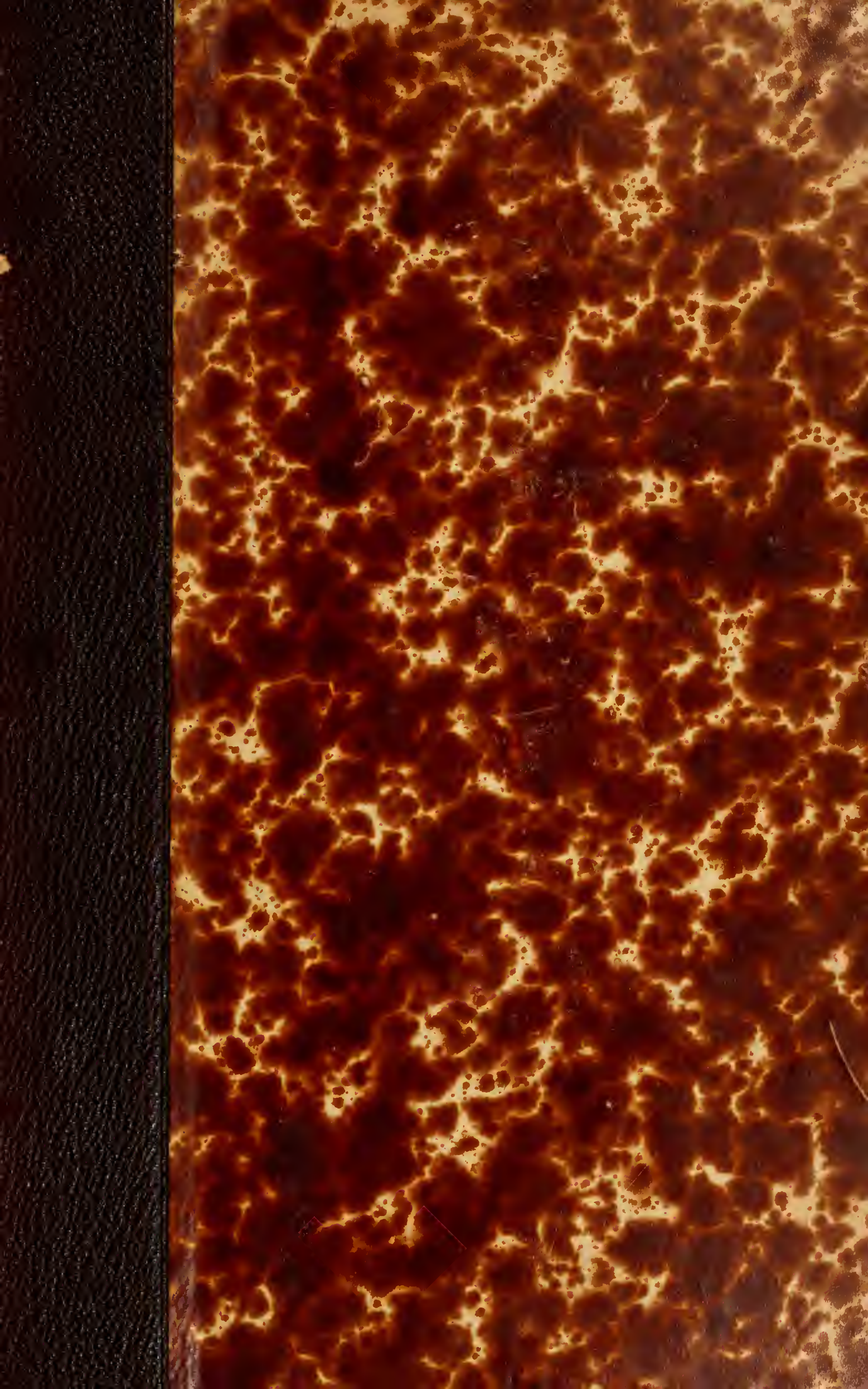
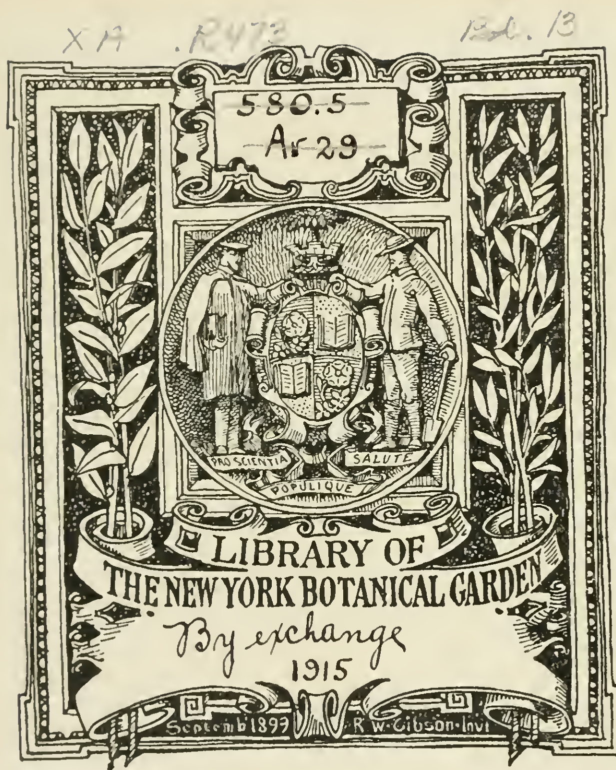




580.5
Ar29
PRO SCIENTIA
SALUTE
POPULIQUE
LIBRARY OF
THE NEW YORK BOTANICAL GARDEN
By exchange
1915
Septemb 1897
R. W. Gibson Invt

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



DREIZEHNTER BAND

MIT 59 TEXTFIGUREN UND 40 TAFELN



LEIPZIG
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1915

Inhalt des dreizehnten Bandes

Erstes Heft

Ausgegeben am 30. Juni 1914

Zweites Heft

Ausgegeben am 4. August 1914

Drittes Heft

Ausgegeben am 2. März 1915

Viertes Heft

Ausgegeben am 13. April 1915.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



DREIZEHNTER BAND
ERSTES HEFT
MIT 20 TEXTFIGUREN UND 4 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 30. JUNI 1914



LEIPZIG UND BERLIN
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1914

Preis: M. 14.—.

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt**, Zoologisches Institut, **München**, Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Über den Bau des Zellkerns bei den Algen und seine Bedeutung für ihre Systematik.

Von

Hermann von Neuenstein

Heidelberg.

Mit 20 Textfiguren.

Inhaltsübersicht.

I. Einleitung.

Die Algen waren von jeher beliebte Objekte für cytologische Studien. Das beweist die umfangreiche Literatur, die wir über Algenkerne haben. Die Zellkerne einzelner grüner Fadenalgen erreichen eine beträchtliche Größe in der sonst durchsichtigen Zelle und boten deshalb besonders für die ersten Beobachter ein geeignetes Material für Kernstudien, zumal die Kerne sehr oft auch im Leben gut zu sehen sind.

Für den Bau der Kerne kommt vor allen Dingen deren morphologische Zusammensetzung in Betracht. Zweifellos wird aber heute die Chemie des Zellkerns und damit seine Physiologie mehr gewürdigt denn je. Die Chemie des Zellkerns wird uns auch noch Aufschluß zu geben haben über manchen dunkeln Punkt, in den die Morphologie kein Licht zu bringen vermag.

Daß gerade die Teilung der Zellkerne für die Erkenntnis des Baues der Zellkerne eine wichtige Rolle spielt, ist begreiflich. Bei der Teilung — und hier handelt es sich fast ausschließlich um die Karyokinese — löst sich der Kern gleichsam in seine Elementarbestandteile auf und ermöglicht uns dadurch einen viel besseren Einblick in seine Zusammensetzung, als uns das glückt beim Studium des ruhenden Kerns.

Tiefgreifende Veränderungen eines Organismus, die zur Entstehung neuer Arten führen, müssen auch an dem für die Vererbung so wichtigen Zellkern einschneidende Veränderungen nach sich ziehen, sodaß es wohl

möglich wäre, aus der Anordnung und Beschaffenheit seiner Elemente, sowie vor allen Dingen seinem Verhalten bei der Teilung auf verwandtschaftliche Beziehungen zu schließen. Selbstredend wird man keine Systematik ausschließlich auf der Beschaffenheit der Kerne aufbauen, sondern man wird den Bau der Kerne unter vielen andern Merkmalen zur Feststellung von verwandtschaftlichen Beziehungen verwerten.

Meine Aufgabe soll es sein, auf Grund der vorhandenen Literatur und gestützt auf eigene Beobachtungen, speziell den Bau des Zellkerns bei den Algen zu untersuchen und zu prüfen, ob systematisch sich nahestehende Gruppen der Algen auch in ihren Kernverhältnissen übereinstimmen, oder ob der Bau der Kerne neue verwandtschaftliche Beziehungen aufdeckt.

Die vorliegende Arbeit wurde im botanischen Institut der Universität Heidelberg ausgeführt. Meinen hochverehrten Lehrern Herrn Geh. Rat Prof. Dr. G. Klebs und Herrn Prof. Dr. G. Tischler fühle ich mich zu tiefem Danke verpflichtet für die wertvolle wissenschaftliche Unterstützung, die sie mir zuteil werden ließen.

I. Conjugatae.

a) Kerne in vegetativen Zellen.

1. Zygnemaceen.

Spirogyra.

So weit meine Erfahrung reicht, weichen die Kerne der verschiedenen Spirogyren im Ruhestand nicht von einander ab. Ich beschäftigte mich hauptsächlich mit drei Species, einer schmalen, langzelligen mit linsenförmigem Kern, einer derben breiten Species mit rechteckigem Kern und einer mittleren Form. Da mir Zygoten fehlten, konnte ich sie nicht mit Sicherheit bestimmen.

Der Kern von *Spirogyra* liegt in der Mitte der Zelle eingebettet in eine Plasmamasse, die ihrerseits wieder an Plasmafäden in der Zelle, und zwar an den Pyrenoiden aufgehängt ist. Die Längsachse des Kerns fällt bei den großkernigen Formen mit der Querachse der Zelle zusammen.

Der Kern der *Spirogyra* ist umgeben von einer derben, zuweilen fast meßbar dicken Membran. Im lebenden Zustand sieht er völlig homogen aus. Von einer körnigen oder fädigen Struktur, wie etwa bei Peridineen ist im Leben nichts zu sehen. An fixiertem und gefärbtem Material dagegen (Flemming-Heidenhain) ist ein deutliches Gerüstwerk im Kern

zu sehen. Man hat den Eindruck eines mit Flüssigkeit erfüllten, von Fäden durchzogenen Bläschens. In den Knotenpunkten des Netzwerkes liegen Chromatinkörner, die nicht mit derselben Begier Farbstoff aufnehmen wie der Nucleus. Ich lasse es dahin gestellt, ob die geringere Affinität zu Farbestoffen die Folge einer lockereren Zusammensetzung der Chromatinkörnchen ist, oder ob die Chromatinkörnchen chemisch vom Nucleus verschieden sind. Ich könnte nicht behaupten, daß die Körnchen scharf umschrieben wären oder eine konstante Form besäßen. Sie treten besonders scharf in älteren Präparaten hervor, wo das übrige Netzwerk ganz farblos geworden ist. Aber auch da zeigen sie sich nicht so deutlich und nicht so reichlich wie sie in normal gebauten Kernen von *Oedogonium* zum Beispiel oder *Cladophora* zu sehen sind.

Der »Nucleolus« ist allem Anschein nach von einer Membran umgeben. Eine solche glaubte ich zu sehen bei Behandlung der gefärbten Kerne mit Chloralhydrat oder Jodjodkalium. Der Nucleolus nimmt sehr begierig Farbstoffe auf und sieht noch völlig homogen gefärbt aus, wenn das Netzwerk durch das Differenzieren bereits ganz entfärbt ist. Nicht selten konnte ich im Nucleolus eine deutliche Vacuole wahrnehmen (Fig. 1 *a*), die schon in lebenden Exemplaren sichtbar war. Solche Vacuolen wurden schon von andern Autoren beschrieben und zum Teil als die richtigen Nucleolen aufgefaßt.

Klumpen im Nucleolus, wie sie Fig. 1 *a—e* veranschaulicht, dürften wohl durch die Fixierungsflüssigkeiten hervorgerufene Gerinnungserscheinungen sein, denn sie zeigten zu ungleiche Ausbildung an Gestalt wie an Zahl, als daß man sie für besondere Strukturen des Nucleolus halten könnte. Bald nahmen sie annähernd den ganzen Raum des Nucleolus ein, bald waren sie nur als kleine unregelmäßig gestaltete Körner sichtbar. Der helle Hof um sie ist wohl durch die Eingriffe der Reagenzien entstanden, die ein Zusammenklumpen einzelner Teile bewirkten und dadurch eine Kontraktion hervorriefen, vielleicht auch andere Bestandteile, vor allem Eiweiße (Degagny, 93) herauslösten.

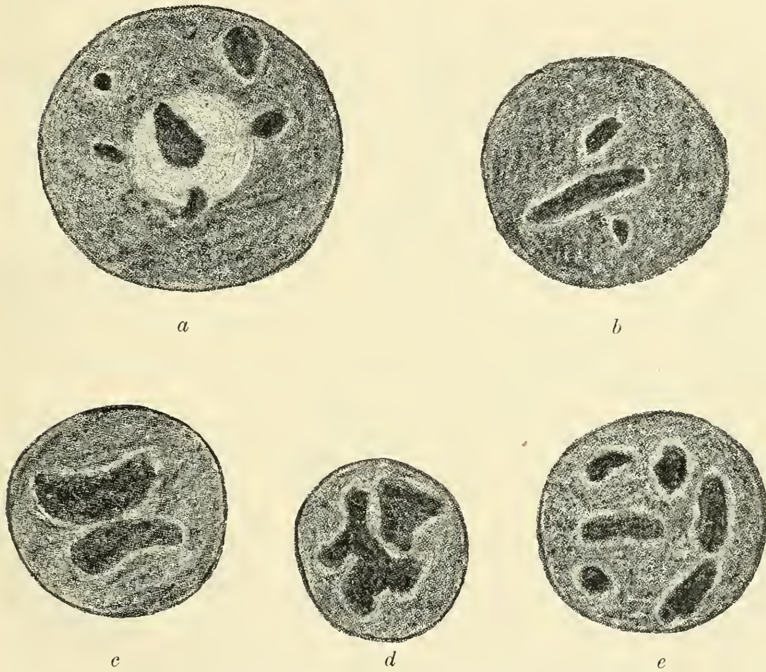
Im Leben zerdrückte Zellen zeigten am Nucleolus eine eigenartige Struktur, die ich mit der von Karsten (09) beschriebenen in Beziehung bringen möchte. Der Nucleolus wurde nämlich körnig. Diese Körnelung war deutlich zu sehen, da der Nucleolus in dem Wasser ein wenig verquoll. Ich zählte sogar des öfteren 12—14 solcher Körner, die also auch der Zahl nach den Chromosomen entsprächen. Übrigens war mir die Arbeit von Karsten zur Zeit, als ich diese Beobachtungen machte, noch nicht bekannt.

Über den Verlauf der Kernteilung bei *Spirogyra* war man sich lange

Zeit im unklaren. Die Beobachtungen förderten so verschiedene Resultate zutage, daß es gerade kein Genuß ist, sich in die Literatur über *Spirogyra* einzuarbeiten. Ein Blick auf die am Schlusse dieses Kapitels beigefügte Tabelle genügt, um das zu demonstrieren.

Einer der ersten und zugleich sorgfältigsten Beobachter, STRASBURGER, hatte den Verlauf der Kernteilung bei *Spirogyra* bereits so geschildert,

Textfig. 1.



Spirogyra. Nucleolen nach dem Fixieren. *a* mit centraler Vacuole.

wie er nach den neuesten Forschungen wirklich vor sich zu gehen scheint. Deshalb soll die Arbeit von STRASBURGER (80), die auch die Anregung gab, zu den zahlreichen folgenden Studien über den Kern von *Spirogyra* hier als Basis dienen für die Besprechung der Kernteilung von *Spirogyra.*

STRASBURGER (80) konnte im Außenkern fast gar kein Chromatin sehen, dagegen enthielt der Nucleolus sehr viel Chromatin. Bei beginnender Teilung nimmt der Kern bedeutend an Volumen zu. An seinen Endflächen, den Polen, sammelt sich feinkörniges Protoplasma an, das die

Neigung hat, sich in Fäden senkrecht zu den Endflächen des Kerns anzuordnen. Das Kernkörperchen zerfällt in eine Anzahl unregelmäßig gestalteter Körner.. Diese Körner wandern nach der Äquatorialebene und bilden dort die Kernplatte. Zur selben Zeit sieht man die Kernwand schwinden, zuerst an den Polen. Von dort dringen die Protoplasmafäden nach der Äquatorialebene vor und bilden die Spindelfasern. Diese verlaufen parallel zueinander.

Die Stäbchen der Kernplatte, die selbst wieder aus kleinen Körnchen bestehen, teilen sich nun der Länge nach. Die dadurch gebildeten Kernplattenhälften rücken auseinander; zwischen ihnen verbleiben Spindelfasern als Verbindungsstücke zurück, die sich alsbald zu einzelnen Gruppen vereinigen und nach außen biegen. Nun werden die Kernplattenhälften dicker und verschmelzen unter einander zu einem Chromatinklumpen. Dadurch, daß dieser Chromatinballen sich ausdehnt, entsteht die Kernhöhle, der Außenkern. Es erscheint die Kernmembran wieder. Der Inhalt der Tochterkerne wird balkenförmig, schließlich körnig. Auf Kosten des reichlich an den Polen angesammelten Protoplasmas wachsen die Tochterkerne. In ihrem Innern werden zwei bis vier stark lichtbrechende Bläschen sichtbar, von denen eines auf Kosten der andern an Größe zunimmt. Das ist die Wiedergeburt des Nucleolus. Bleiben mehrere Bläschen erhalten, so entstehen Nucleolen in Mehrzahl.

Strasburger läßt also die Chromosomen einzig und allein aus dem Nucleolus entstehen. Es wäre nun anzunehmen, daß sie dann später beim Verklumpen auch wieder den Nucleolus bilden. Das konnte aber Strasburger nicht beobachten; im Gegenteil, er sah aus den Chromosomen den Außenkern entstehen, während die Nucleolen neu gebildet wurden. Dieser Widerspruch wurde von Strasburger selbst beseitigt in einer folgenden Arbeit aus dem Jahre 1882. Dort konnte er tatsächlich das Verklumpen der Chromosomen zu einem nucleolusartigen Körper beobachten. Strasburger unterscheidet jetzt zwei Bestandteile des Kerns: Hyaloplasma (Gerüstwerk) und Mikrosomen (färbbare Teile des Kerns). In der Hauptsache ist Strasbugrer auch jetzt noch für einen nucleolaren Ursprung der Chromosomen, doch soll in geringem Maße auch der Außenkern an ihrer Bildung beteiligt sein. Die Chromosomen zeigten sich Strasburger nicht mehr in Form von Körnern oder Stäbchen, sondern als dünne Fäden, zusammengesetzt aus abwechselnd stark und schwach färbbaren Scheiben. In den in Bildung begriffenen Tochterkernen sieht man zuerst noch relativ dicke Fäden. Diese Fäden sind nichts andres als die an ihren Enden vereinigten Chromosomen. Die Fäden verschmelzen zu einem Chromatinklumpen, dem Nucleolus. In dem

Maße, wie der Nucleolus durch diesen Verdichtungsprozeß neu entsteht, wird der Außenkern blasser und enthält schließlich nur noch Hyaloplasma mit ganz wenig eingelagerten Mikrosomen.

Nach Strasburger hätte also *Spirogyra* einen Karyosomkern in dem Sinne, daß der Nucleolus die Substanz zur Bildung der Chromosomen enthält, während das Chromatin des Netzwerks nicht oder nur in verschwindendem Maße an ihrer Bildung beteiligt ist. Zu diesem Resultat kam auch eine Reihe andrer Forscher: Macfarlane (81), Tangl (82), Carnoy (84), Meunier (87), Moll (93), Mitzkewitsch (98), Berghs (06), Karsten (09) und Tröndle (11).

Da Meunier (87) außerdem am Nucleolus eine Membran nachweisen konnte, faßte er ihn als den eigentlichen Kern auf, der nur seiner Lage nach im Nucleus als Nucleolus angesehen werden kann. Dementsprechend will Meunier den Ausdruck »nucléole-noyau« von Carnoy (84) beibehalten wissen. Meunier war allerdings nicht der erste, der eine Membran um den Nucleolus beobachtete. Das soll bereits Macfarlane (81) gesehen haben. Leider war mir dessen Arbeit nicht zugänglich. Ich entnehme der Literaturübersicht von Berghs (06) den Namen »Nucleolonucleus«, den Macfarlane für den Nucleolus von *Spirogyra* prägte. Berghs selbst bestreitet dagegen das Vorhandensein einer Membran um den Nucleolus, während Mitzkewitsch (98) und van Wisselingh (98, 00) eine solche auch beobachteten. Ich selbst zweifle nicht an deren Existenz bei *Spirogyra*, nachdem ich eine solche mit ziemlicher Sicherheit nach Behandlung des Kerns mit Chloralhydrat und Jodjodkalium gesehen habe.

Natürlich wird das Vorhandensein einer Membran um den Nucleolus ganz energisch bestritten von den Forschern, die dem Nucleolus überhaupt nicht die Bedeutung eines Karyosoms zuerkennen. Das ist vor allen Dingen Zacharias, der in einer Reihe von Arbeiten durch mikrochemische Reaktionen nachzuweisen versuchte, daß im Nucleolus absolut kein Nuclein zu finden sei. Der Nucleolus enthielte im Gegenteil nur Plastin (Strasburgers Hyaloplasma). Es schien sogar eine Zeit lang, als sollten die Anhänger des »normalen« Baues des *Spirogyra*-Kerns die Oberhand gewinnen über die Vertreter des »nucléole-noyau«, als auch Strasburger (88) seine frühere Ansicht völlig verwarf. Immer und immer wieder beschäftigte sich Strasburger mit der Karyokinese von *Spirogyra*, jedesmal fand er etwas zu berichtigen. Ganz entschieden hat sich hier Strasburger beeinflussen lassen durch die Untersuchungen von Zacharias. Das ist aber sehr begreiflich. Die mikrochemischen Methoden von Zacharias erweckten viel mehr den Anschein der Zuver-

lässigkeit als die reinen Färbemethoden der meisten früheren Cytologen. Zacharias war aber noch bei jeder Nachprüfung zu demselben Resultat gekommen: daß nur der Nuclus die Chromosomen bilden könne und nicht der Nucleolus. Nachdem allerdings Tröndle (12) ebenfalls auf Grund mikrochemischer Reaktionen zu der Überzeugung kam, daß der Nucleolus von *Spirogyra* Nuclein enthält, und zwar in Form von Nucleoproteiden, daß also die Chromosomen unzweifelhaft aus dem Nucleolus hervorgehen können, dürfen wir die Angaben von Zacharias als widerlegt betrachten.

Die Art und Weise, wie die Chromosomen aus dem Nucleolus entstehen, ist aber noch lange nicht klargestellt. Eine Reihe von Forschern konnte schon im Ruhezustand das Nuclein in Form von Fäden im Nucleolus beobachten: Tangl (82) und vor allen Dingen Meunier (87). Karsten (09) sah im ruhenden Nucleolus Klumpen, die bei der Teilung als kurze Chromosomenstäbchen in Erscheinung traten. Ihre Zahl stimmte mit der der Chromosomen überein, sodaß es ziemlich wahrscheinlich ist, daß die Chromosomen wirklich in genetischem Zusammenhang stehen mit den 14 Chromatinklumpen des ruhenden Nucleolus. Karsten sah diese 14 Klumpen im ruhenden Nucleolus allerdings nur in einigen Fällen. Dagegen konnte van Wisselingh (98) mit Sicherheit wenigstens zwei Fäden im ruhenden Nucleolus nachweisen, indem er den Kern mit 50% Chromsäure behandelte. Dadurch lösten sich nacheinander das Zellplasma, die Kernwand, das Kernplasma, schließlich der Nucleolus, während die beiden Fäden im Nucleolus und zehn andre im Nucleus der Chromsäure am längsten Widerstand leisteten. Daß diese beiden Fäden auch wirklich Chromosomen sind, das konnte Wisselingh bei der Teilung beobachten. Jeder Faden war in einen Schlauch eingeschlossen, dessen Wände vor dem Austreten der Fäden als Chromosomen an den Enden durchbrochen werden mußten. Ich selbst konnte aber, trotz vielen Suchens, die beiden Fäden im Nucleolus nie beobachten. Bei Behandlung mit 50% Chromsäure war der Nucleolus noch zu sehen, wenn der ganze übrige Kern bereits verschwunden war. Bei weiterer Einwirkung wurde das Aussehen des Nucleolus körnig. Ob die Körner dann aber in konstanter Zahl auftraten, das lasse ich dahingestellt. Jedenfalls waren es mehr als zwei.

Eine Reihe von Forschern, die die Chromosomen aus den Chromatinkörnern des Netzwerks entstehen lassen, bringen diese insofern mit dem Nucleolus in Beziehung, als sie annehmen, daß die Chromosomen vor ihrer definitiven Ausbildung sich auf den Nucleolus zurückziehen und Chromatin, färbbare Substanz, von ihm aufnehmen (Moll [93], Degagny

[90]). Durch dieses Einwandern der Chromosomen hat es den Anschein, als stammten die Chromosomen ganz aus dem Nucleolus. So erklärt sich wenigstens DEGAGNY (90) die Angaben der Autoren, die für *Spirogyra* einen Karyosomkern beschrieben.

Die Chromosomensubstanz ist nicht der einzige Bestandteil des *Spirogyra*-Nucleolus. KARSTEN (09) beschrieb das Auswandern von blassen Kugeln aus dem Nucleolus während der Teilung. Da auch DEGAGNY (93) solche Kugeln beobachtete, die schon bei der Berührung mit dem Kernsaft an ihrer Oberfläche koagulierten, ist es wohl sicher, daß es sich dabei um eiweißartige Körper handelt. Vielleicht stehen sie in Beziehung zur Bildung der Tochternucleolen. VAN WISSELINGH (00) sieht in diesen ausgestoßenen Ballen auch die eigentlichen Nucleolen. Ein Teil von ihnen löst sich im Plasma auf, ein andrer Teil sammelt sich an den Kernpolen an und nimmt die Tochterchromosomen in sich auf. Wahrscheinlich ist die polare »Scheibe« aus körnigem Plasma, die DEGAGNY (93) beschrieb, und die nach ihm aus Cytoplasma und Karyoplasma, das bei der Kernteilung keine Verwendung fand, bestehen soll, nichts andres als das, was VAN WISSELINGH als die Reste der eigentlichen Nucleolen betrachtet.

Gerade so umstritten wie die Funktion des Nucleolus bei der Kernteilung ist die Frage nach der Entstehung der Kernspindel. Besonders der Umstand, daß die Spindel bei *Spirogyra* bereits in Erscheinung tritt, wenn die Kernmembran noch erhalten ist, gab schon FLEMMING (82) Anlaß, sich über den Ursprung der Spindel mit STRASBURGER, dem eifrigsten Verfechter des cytoplasmatischen Ursprungs der Spindel, auseinanderzusetzen. FLEMMING bestreitet ein aktives Hineinwandern von Cytoplasma in die Kernteilungsfigur zu einer Zeit, da die Membran noch erhalten ist. Wohl wächst später der Kern auf Kosten des Cytoplasmas, aber die Kernspindel soll noch innerhalb der Membran angelegt werden. An ihrer Bildung könnte somit nur der achromatische Teil des Netzwerks beteiligt sein, allenfalls noch als Umgrenzung die Kernmembran. Dieser Auffassung schließt sich auch ZACHARIAS (85, 88, 09) an und sucht sie zu begründen, wieder mit Hilfe mikrochemischer Reaktionen. Er weist besonders auf Verschiedenheiten hin im chemischen Verhalten des Cytoplasmas und der Kernspindel. Den Hauptbestandteil des Cytoplasmas bildet das Plastin. Sollte die Spindel aus Cytoplasma entstehen, dann müßte auch bei ihr Plastin nachzuweisen sein. Diesen Nachweis konnte aber ZACHARIAS nicht erbringen. Dagegen gaben die Kernspindel und die Grundsubstanz des Kerns dieselben Reaktionen. Deshalb und weil er die ganze Kernteilungsfigur durch ein feines Häutchen gegen das Cyto-

plasma abgegrenzt sah, kommt ZACHARIAS zu dem Schluß, die Kernspindel entsteht aus dem Kernplasma. Anhänger dieser Auffassung ist auch DEGAGNY (90).

Dem gegenüber stehen aber die Beobachtungen der meisten andern Forscher. Manche wollten gesehen haben, daß die Kernmembran an den Polen vor ihrer vollständigen Auflösung durchlöchert erscheint. Durch diese Löcher sollte das schon zu Beginn der Kernteilung faserig differenzierte Cytoplasma in die Teilungsfigur eindringen und dort zu Spindelfasern werden. Wahrscheinlicher ist, daß sich die Kernmembran an den Polen ganz auflöst und nun dem Cytoplasma freien Eintritt in die Kernteilungsfigur gestattet. Das dürfte der Vorstellung entsprechen, die die meisten Forscher über den Ursprung der Spindel bei *Spirogyra* haben. Ich erwähne neben STRASBURGER (80, 82, 84, 88) noch TANGL (82), MITZKEWITZCH (98), VAN WISSEILNGH (02) und die neueren Autoren, von denen aber BERGHS (06) sich wieder der alten Auffassung anschließt, wonach die Kernmembran von den vordringenden Spindelfasern zuerst eingebuchtet und dann durchbrochen wird. Jedenfalls ist soviel sicher, daß bald nach der Fertigstellung der Kernspindel die Kernmembran an den beiden Kernpolen aufgelöst wird. Als richtigen Faktor der Mitose — gegeüber der Amitose — betrachtet man eine völlige Auflösung der Kernmembran während der Teilung. Man bringt das Verschwinden der Kernmembran in Zusammenhang mit dem Austausch von Cytoplasma und Karyoplasma. Doch ist es fraglich, ob bei *Spirogyra* die ganze Kernmembran der Auflösung anheimfällt.

Schon TANGL (82) beschrieb ein Verbindungsstück der auseinanderweichenden Kernplattenhälften. Er gab ihm den Namen »Verbindungsschlauch« und nahm an, daß es gebildet würde aus der Kernmembran einerseits und der Hüllhaut des Nucleolus anderseits. Diese bildeten zwei Schichten des Verbindungsschlauchs, von denen natürlich die Kernmembran die äußere Begrenzungsschicht darstellte.

So ein Verbindungsschlauch wurde noch — wenn auch nicht in Beziehung mit der Kernmembran — von STRASBURGER (88) und von BEHRENS (90) beschrieben. STRASBURGER glaubte ihn entstanden durch Ausbiegung und Zusammenlegen der zwischen den Kernhälften zurückbleibenden Verbindungsfasern, denen sich nach außen ein Cytoplasmamantel anlegte, während BEHRENS in ihm die Wände von Vacuolen sah, welche während der Teilung, angefüllt mit Zellsaft, in die Teilungsfigur eindrangen.

Ob Amitosen, wie sie von GERASSIMOFF und NATHANSON (00, 04) geschildert werden, wirklich bei *Spirogyra* vorkommen, das ist zum min-

desten fraglich — VAN WISSELINGH (03, 04) bezweifelt es. Er hält auch solche Teilungen, bei denen die Membran fast vollständig erhalten bleibt und Spindelfasern nicht mehr sichtbar sind, nur für stark veränderte Mitosen, hervorgerufen durch den Einfluß der Narcotica, welche GERASSIMOFF und NATHANSON anwendeten, um »Amitosen« zu erzeugen.

Das wäre in kurzen Zügen das, was wir über den Kern von *Spirogyra* wissen.

Unumstritten steht nur die eine Tatsache fest, daß der *Spirogyra*-Kern gegen das Cytoplasma durch eine Membran abgegrenzt ist und daß diese Membran zum wenigsten in der Hauptsache aus Cytoplasma besteht. Alles andre, insbesondre die Daten über die Kernteilung, vor allem die Entstehung der Chromosomen, ihre Gestalt, ihre Zahl (siehe Tabelle), die Regeneration der Tochterkerne, die Entstehung der Spindel und ihr Schicksal sowie das der Kernmembran sind Gegenstand des lebhaftesten Streites und zum Teil heute noch nicht entschieden. Für unser Thema sind sie auch nicht von der Wichtigkeit, daß sie alle hier einer eingehenden Würdigung unterworfen werden müßten. Es interessiert uns hauptsächlich die eine Frage: Hat *Spirogyra* einen Karyosomkern oder nicht? Diese Frage muß aber ohne Zweifel mit »ja« beantwortet werden. Denn alle neueren Autoren sprechen sich übereinstimmend dahin aus. ZACHARIAS (09) ist der einzige, der nach wie vor seiner Überzeugung treu bleibt und dem Nucleolus von *Spirogyra* nicht die Funktion eines Karyosoms zuerkennt. ZACHARIAS ist aber der Forscher, der seine Anschauung lediglich auf Grund chemischer Reaktionen erhielt. Allerdings wurde von manchen Seiten schon in Frage gestellt, ob seine chemischen Reaktionen auch wirklich eindeutig sind. Die Resultate von ZACHARIAS über die Zusammensetzung des *Spirogyra*-Kerns wurden noch von ZIMMERMANN (96) bestätigt, verlieren aber deshalb sehr an Wert, weil neuerdings TRÖNDLE (12) seine früher durch morphologische Studien gewonnenen Kenntnisse durch chemische Reaktionen bestätigt fand. Er prüfte hauptsächlich das Verhalten der Chromatinkörner und des Nucleolus von *Spirogyra* gegenüber starken und schwachen Säuren und verdünnten Alkalien und verglich seine Resultate mit denen, die er erhielt, wenn er die Chromosomen mit denselben Reagenzien behandelte. Da kam er zu der Überzeugung, daß der Kern von *Spirogyra* wirklich ein Karoysomkern ist, daß also den Chromosomen im Ruhezustand der Nucleolus entspricht.

Die ausführlichste Untersuchung aus neuerer Zeit über *Spirogyra* ist immer noch die Arbeit von BERGHS (06). Da ihr auch KARSTEN (09) und TRÖNDLE (11) beipflichten, soll sie mir als Grundlage dienen bei einer

kurzen Zusammenfassung des heutigen Standes der Kernforschung bei *Spirogyra*.

Das spärlich vorhandene Chromatin des Netzwerks ist bei der Kernteilung offenbar nicht an der Bildung der Chromosomen beteiligt. Es verschwindet zu Beginn der Teilung fast vollständig. Der Kernfaden, aus dem die Chromosomen hervorgehen, hat seinen Ursprung einzig und allein im Nucleolus. Die Chromosomen sind zur Zeit ihrer typischen Ausbildung kurze, homogene Stäbchen. Sie werden bereits in der Prophase längsgespalten, machen sich aber nicht frei vom Nucleolus, sondern bleiben auch später noch mit einer Restsubstanz desselben in Berührung. Diese Restsubstanz bildet nach Berghs ihrerseits wieder chromosomenähnliche Gebilde, welchen die Aufgabe obliegt, die richtigen Chromosomen den cytoplasmatischen Spindelfasern entlang nach den beiden Kernpolen hinzubringen. Sie unterscheiden sich von den richtigen Chromosomen durch ihre körnige Beschaffenheit und ihr Auftreten in der Zahl sechs. Die richtigen Chromosomen sind 12 an Zahl und liegen zu je zwei an einem Ende der sechs längsgespaltenen Chromosomen aus der Restsubstanz. Die in der Telophase zu einem Klumpen konzentrierte Chromosomenmasse macht eine Vacuolisation durch, verdichtet sich aber nachher wieder und bildet den Nucleolus. Der Außenkern hat das Aussehen einer Vacuole, in die von der jungen cytoplasmatischen Kernwand aus allmählich kleine Körnchen vordringen und damit das Bild eines ruhenden Kerns vervollständigen.

Im großen und ganzen schließen sich auch Karsten und Tröndle dieser Schilderung an. Allerdings erwähnt Karsten nichts von den Chromosomen aus der Restsubstanz. Vielmehr beobachtete er eine Ausstoßung der Restsubstanz des Nucleolus. Auf die Arbeiten von Karsten und Tröndle komme ich bei der Besprechung der Reduktionsteilung bei *Spirogyra* zurück.

Vielleicht wäre der durch die beigefügte Tabelle S. 13 übersichtlich dargestellte Wirrwarr der Meinungen über den Bau des *Spirogyra*-Kerns nicht aufgetreten, wenn die Forscher sich von vornherein über den Begriff »Chromatin« klar gewesen wären. Ein Teil der Gelehrten identifiziert Chromatin direkt mit Nuclein, während andre darunter nur den Farbstoff verstehen, den die Chromosomen bei ihrer Bildung aufnehmen. Da wir aber auch heute noch nicht wissen, ob das Nuclein der Chromosomen als solches im ruhenden Kern vorkommt, so sind die Akten darüber noch lange nicht geschlossen. Nach der kürzlich erschienenen Arbeit von Němec (09) scheinen wir über die chemischen Vorgänge bei der Bildung der Chromosomen noch manches umlernen zu müssen.

Die Verschiedenheiten in der Zahl der Chromosomen der einzelnen *Spirogyra*-Species dürfen wir nicht ohne weiteres in das Gebiet der Unsicherheiten verweisen. Es wurde ja schon mehrfach für ganz nahe verwandte Pflanzen, ja für Species ein und derselben Art, sowohl bei höheren als bei niederen Pflanzen große Unterschiede festgestellt in der Zahl der Chromosomen. Es ist deshalb sehr wahrscheinlich, daß die verschiedenen Angaben über die Zahl der Chromosomen auf Verschiedenheiten der untersuchten Species zurückzuführen sind. TRÖNDLE (11) zählt z. B. bei *Spirogyra calospora* 8—10 Chromosomen, bei *Spirogyra longata* und *neglecta* 10—12; VAN WISSELINGH bei *Spirogyra crassa* 12, bei *setiformis* nur 6.

Autor	Membran	Nucleolus	Chromosomen aus	Zahl der Chrom.	Species	Spindel aus
STRASBURGER (80) .	Cytoplasma	Karyosom	Nucleolus	—	—	Cytoplasma
MACFARLANE (81) .	—	»	»	—	—	Aufhängefäden des Kerns
STRASBURGER (82) .	Cytoplasma	»	Nucleolus (+ Kern)	—	—	Cytoplasma
FLEMMING (82) . .	—	—	»	—	—	Karyoplasma (+ Kernmembran)
TANGL (82)	—	Karyosom	Nucleolus	—	—	Cytoplasma
STRASBURGER (84) .	Cytoplasma	»	Nucleolus (+ Kern)	—	—	»
CARNOY (84). . . .	—	»	Nucleolus	—	—	—
ZACHARIAS (85) . .	—	normal	Kern	—	—	Karyoplasma (+ Nucleolus)
MEUNIER (87) . . .	Cytoplasma	Karyosom	Nucleolus	—	—	Cytoplasma (+ Karyoplasma)
STRASBURGER (88) .	»	normal	Kern	—	—	Cytoplasma
ZACHARIAS (88) . .	»	»	»	—	—	Karyoplasma
DEGAGNY (90, 93) .	Cytoplasma (+ Karyopl.)	»	Kern (+ Nucl.)	—	—	Karyoplasma + Cytoplasma
MOLL (93).	Cytoplasma	—	»	12	*crassa*	—
ZIMMERMANN (96) .	—	normal	Kern	—	—	—
MITZKEWITSCH (98)	—	Karyosom	Nucleolus	24	*subaequa*	Cytoplasma
V. WISSELINGH (98, 02)	Cytoplasma	enthält 2 Chrom.	Kern 10 Nucleol. 2	12 2	*crassa* *triformis*	» »
BERGHS (06). . . .	»	Karyosom	Nucleolus	12		
ZACHARIAS (09) . .	»	normal	Kern	—	—	—
KARSTEN (09) . . .	—	Karyosom	Nucleolus	14	*jugalis*	—
TRÖNDLE (11) . . .	—	»	»	8—10	*calospora*	—
				10—12	*longata* *neglecta*	—

Zygnema.

Der Zellkern von *Zygnema* wurde bereits 1858 von de Bary gesehen und folgendermaßen beschrieben: »In der Mitte lebhaft vegetierender Zellen liegt ein ohngefähr kugliger Cytoblast, zart konturiert, mit centralem Nucleolus, eingebettet in einer dünnen Schicht körnigen Plasmas, die ihn sogar häufig gänzlich verdeckt« (S. 8). Die Teilung des Kerns beobachtete de Bary nicht. Entsprechend der zu seiner Zeit herrschenden Meinung nahm er an, daß der Kern bei der Teilung verschwindet und erst nach der Zellwandbildung wieder neu auftritt.

1906 erschien eine Arbeit von Miss Mabel L. Merriman über den Zellkern von *Zygnema*. Merriman stellte fest, daß der Kern von einer cytoplasmatischen Membran umgeben ist. Desgleichen besitzt das Kernkörperchen eine Membran. Nach Merriman entspräche der Nucleolus von *Zygnema* nicht dem gleichnamigen Gebilde höherer Pflanzen, sondern ähnle dem Kernkörperchen von *Spirogyra*. Denn aus ihm gingen zum größten Teil die Chromosomen hervor. Nur wenig sei an ihrer Bildung der Nucleolus beteiligt.

Zuerst sollen nach Merriman 20—30 Körner entstehen, und zwar durch Zerfall des Nucleolus ohne Spirembildung. Das sind die Chromosomen der Prophase. Von diesen legen sich je vier zusammen und bilden 6—8 Vierergruppen, die Chromosomen der Metaphase. In der Äquatorialebene trennen sich je zwei der ursprünglichen Chromosomen von den beiden andern einer Vierergruppe und bilden 15—20 Chromosomen der Telophase. (Die Zahlen sind nicht ganz in Einklang zu bringen.) Nach Merriman findet also keine Längsspaltung der Chromosomen statt, überhaupt keine Teilung, sondern einfach eine Trennung von je zwei Körnern von den beiden andern eines Chromosoms. Vielleicht kann man sich diese abweichenden Befunde so erklären, daß man etwas ähnliches annimmt, wie Lauterborn 1896 für *Surirella*. Dort waren die Chromosomen U-förmig gebogen und längsgespalten. Dadurch glich jedes Chromosom auf Querschnitten und in der Aufsicht einer Vierergruppe, das Auseinanderweichen der Kernplattenhälften einer Trennung von je zwei Punkten von den beiden andern.

Bei der Ankunft der Chromosomen an den Polen, welche sich direkt an die Chromatophoren anschließen, sind wieder die ursprünglichen Körner, wie sie sich aus dem Nucleolus und teilweise auch aus dem Nucleus herausbildeten, zu erkennen. Beim Ausbilden der Tochterkerne werden die Körner zum Teil auf das Kernkörperchen, zum Teil auf den Kern verteilt. Das ist nach ihrer Entstehungsweise auch zu erwarten. Doch

beobachtete Merriman auch andere Fälle: "or rarely all the chromatic material may be diffused in the nuclear plasm, forming numerous more or less tetrahedral granules" (S. 49). Gelegentlich soll es auch vorkommen, daß sie einfach verklumpen und den Nucleolus bilden: "in some cases all the chromosomes may cohere to form the central body" (S. 49). Mit andern Worten, es wäre überhaupt alles möglich.

Trotz all dieser Abweichungen — auch Spindelfasern konnte Merriman nicht sehen, wohl aber Plasma, das in Form von Fasern in die Kernteilungsfigur hineindrang — betrachtet Merriman die Kernteilung von *Zygnema* als eine Mitose. Denn die Kernmembran wird während der Teilung aufgelöst und dadurch ein Austausch von Zellplasma und Kernplasma ermöglicht. Dieses Auflösen der Kernmembran sei aber der hauptsächlichste Faktor der indirekten Kernteilung.

Die Angaben von Merriman klingen zum mindesten etwas unwahrscheinlich. Es folgte denn bald auch eine Nachprüfung, die ebenso wie spätere Arbeiten, ganz andres Tatsachenmaterial zutage förderte. Escoyez (07), Dangeard (09), Kurssanow (11) stimmen darin überein, daß die Chromosomen bei *Zygnema* ganz normal aus dem Netzwerk des Kerns gebildet werden und zwar nach Escoyez durch Zusammenlegen der chromatischen Elemente desselben. Er zählte 30—40, also annähernd so viel, wie Merriman als ursprüngliche Chromosomenzahl angibt. Dangeard und Kurssanow zählten allerdings nur 12 bzw. 14 Chromosomen. Escoyez konnte auch eine regelrechte Längsspaltung der Segmente beobachten ohne vorherige Verschmelzung einzelner zu Gruppen. Die Wiederherstellung der Tochterkerne geschieht nach demselben Autor dadurch, daß der beim Auseinanderweichen der Chromosomen entstehende Klumpen sich lockert, Anastomosen zwischen den einzelnen Elementen bildet und auf diese Weise allmählich zum Netzwerk wird. Cytoplasmatische Spindelfasern beobachteten sowohl Escoyez als Kurssanow.

Zygnema, an deren Verwandtschaft mit *Spirogyra* nicht zu zweifeln ist, wäre also in cytologischer Hinsicht nicht mit *Spirogyra* in Einklang zu bringen. Nach Merriman soll zwar der Nucleolus an der Bildung der Chromosomen beteiligt sein, doch scheinen mir ihre Befunde nach den neueren Arbeiten von Escoyez und Kurssanow unsicher zu sein.

Auch der Bau des ruhenden Kerns von *Zygnema* ist mit Ausnahme der Gestalt und Form nicht verschieden von dem der höheren Pflanzen, wie ich mich des öfteren überzeugen konnte. Der Nucleolus ist bei *Zygnema* erheblich kleiner und unbedeutender als bei *Spirogyra*. Dagegen

treten die Chromatinkörnchen im Netzwerk hier viel deutlicher hervor als bei *Spirogyra* und fallen durch ihre Größe und scharfen Umrisse auf. Der Kern von *Zygnema* ist bedeutend länger als breit. Seine Längsachse fällt mit der Längsachse der Zelle zusammen. Er ist ausgespannt zwischen den beiden Chromatophoren und läßt keine Aufhängefäden erkennen. Er erreicht durchschnittlich eine Größe von 78 μ in der Länge und 26 μ in der Breite, während der Nucleolus nur 3 μ im Durchschnitt groß ist. Sein Volum nimmt den 211. Teil des Zellvolumens ein. Wie schon de Bary bemerkte, ist der Kern oft ganz überdeckt von Plasma und Mikrosomen, sodaß man vor lauter kleinen Körnchen bisweilen den Kern nicht sieht.

Andre Zygnemaceen.

Recht spärlich sind unsre Kenntnisse vom Bau der Kerne andrer Zygnemaceen.

De Bary erwähnt in seinem Konjugatenwerk 1858 Zellkerne von *Craterospermum* (*Mougeotia laetevirens*) und *Mesocarpus parvulus* (*Mougeotia parvula*).

Bei *Craterospermum* ist der Kern ein »zarter, homogen-trüber, farbloser Körper«, in welchem ein Nucleolus deutlich zu sehen ist. Auch konnte de Bary feine Schleimfäden wahrnehmen, welche vom Kern zu der Zellwand verliefen. In jungen Zellen von *Mesocarpus parvulus* war für de Bary der Kern selbst mit Hilfe von Reagenzien nicht nachweisbar. Erst in älteren Exemplaren wurde er sichtbar und war dann der Chlorophyllplatte aufgelagert.

Oft beobachtete de Bary, daß ein Zellkern durch drei Teilungen in acht Tochterkerne zerlegt wurde. Die betreffende Zelle bildete gleichzeitig vier Scheidewände, also fünf Tochterzellen aus. Von diesen bekamen die drei mittleren Zellen je zwei Kerne, die jeweilige äußere Zelle war einkernig. Berthold (86) bestätigte diese Beobachtung. Er verfolgte die Teilung dieser zweikernigen Zellen und sah, daß so viele Scheidewände angelegt werden als Kerne, bzw. Chlorophyllplatten vorhanden sind. Die beiden einkernigen Zellen teilen sich normal, die zweikernigen durch zwei Scheidewände in drei Zellen, während die Kerne sich bei jeder Teilung ganz normal in zwei zerlegen. In den zweikernigen Zellen entstehen also vier Kerne, während dazu nur drei Zellen gebildet werden. Von diesen drei Tochterzellen bekommen dann die beiden äußeren je einen, die innere Zelle wieder zwei Kerne. Auf diese Weise bleibt die Zweikernigkeit gewahrt.

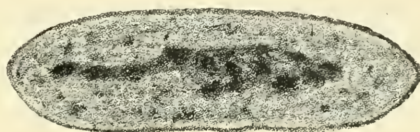
2. Desmidiaceen.

Bei den Desmidiaceen liegt der Kern in der Mitte der Zelle, und zwar bei den eingeschnürten Formen an der Stelle der Einschnürung. Er bildet, wie de Bary (58) sagt, gleichsam eine Brücke zwischen den Chromatophoren. Klebahn (91) sah eine körnige oder stäbchenförmige Anordnung des Chromatins im Kern.

Bei vielen Closterien, die ich nicht alle näher bestimmte, sah ich im Kern gleichmäßig verteilte Chromatinkörnchen. Das Netzwerk war leidlich sichtbar. Der Nucleolus erreichte relativ fast die Größe des Nucleolus von *Spirogyra*. Er war intensiv färbbar.

Der Nucleolus von *Closterium moniliferum* unterscheidet sich aber nach Lutman (10) von dem homogenen Nucleolus von *Spirogyra* durch seine unregelmäßige Umgrenzung. Er besteht nämlich aus einzelnen Körnern, welche nicht gleichmäßig angeordnet sind, sondern allenthalben über die Umgrenzung der Kugel hervorragen.

Textfig. 2.



Kern von *Closterium Ehrenbergii* (Menegh.). Nucleolus aus einzelnen Körnern zusammengesetzt. Vergr. 526.

Noch merkwürdiger ist der Nucleolus von *Closterium Ehrenbergii*. Er bildet, wie auch ich mich überzeugen konnte, keine zusammenhängende Masse, sondern besteht aus einzelnen Klumpen, die sich meist gar nicht zu einem nucleolusähnlichen Körper zusammenschließen, sondern in unregelmäßiger Anordnung und Dichte oft fast die ganze Länge des Kerns einnehmen (Fig. 2). Van Wisselingh (10) betrachtet jedes dieser Körner als Homologon eines Nucleolus.

Bei der Teilung verhalten sich die Kerne der Closterien nach van Wisselingh (10) wie die höherer Pflanzen. Aus dem Netzwerk (*Closterium Ehrenbergii*) bilden sich die Chromosomen zuerst als Fäden heraus. Diese Fäden kontrahieren sich und werden zu kurzen, dicken Chromosomen. Ihre Zahl ist ziemlich groß, wohl über 60. Sie haben nicht alle gleiche Länge und Dicke. Besonders an den Seiten der ganz flachen, scheibenförmigen Kernplatte (Ähnlichkeit mit *Cosmarium*!) ragen einzelne längere Chromosomen in Form von Fäden heraus. Nach erfolgter Längsspaltung verklumpen die Teilhälften, stellen aber nachher durch Ausbildung von Anastomosen das Netzwerk her. Die Tochterkerne rücken nicht weit auseinander, sondern bleiben auch in fertigem Zustand noch in der Nähe der jungen Scheidewand. Erst mit zunehmender Erstarkung

der Zellen rücken sie langsam der Zellwand entlang auseinander, jeder in die Mitte der zugehörigen Zelle.

Die Kernspindel ist cytoplasmatischen Ursprungs, hier aber deshalb nicht gut ausgebildet, weil die Tochterkerne ja ganz nahe zusammenliegen. Ihre Fasern sind sehr fein und dünn.

Die einzelnen Nucleolen verteilen sich während der Kernteilung über die ganze Kernfläche. Manche verklumpen miteinander. Sie werden im Verlaufe der Teilung alle aus dem Kern hinausbefördert und lösen sich langsam im Plasma auf. In den Tochterkernen erscheinen die Nucleolen einzeln wieder.

Die große und formenreiche Gruppe der Konjugaten ist in cytologischer Hinsicht viel zu wenig erforscht, als daß unsre Kenntnisse vom Bau der ruhenden Kerne oder dem Modus ihrer Teilung einen Schluß auf etwaige verwandtschaftliche Verhältnisse zuließe. Die ganze Gruppe hat wohl vollständig »normal« gebaute Kerne wie die höheren Pflanzen. Nur *Spirogyra* macht eine große Ausnahme. Aber trotz dieser Abweichungen im Bau der Kerne finden wir wieder große Übereinstimmungen bei dem Verhalten der Kerne in den Zygoten. Und das ist meines Erachtens für die verwandtschaftlichen Beziehungen der Familienglieder untereinander viel wichtiger als der vegetative Kernbau. Denn die Konjugation (eigentlich handelt es sich hier um eine Kopulation) ist das systematisch wichtigste Erkennungsmerkmal für die Konjugaten. Bei der Konjugation zeigen aber die Kerne aller unter obigem Namen zusammengefaßten Glieder weitgehende Übereinstimmungen, weshalb ich das Verhalten der Kerne beim Geschlechtsprozeß für sich betrachten will.

b) Verhalten der Kerne beim Geschlechtsprozeß.

Auch hier war es wieder *Spirogyra*, an der die ersten Untersuchungen gemacht wurden. Bereits Schmitz (79) stellte fest, daß mit dem Zellinhalt sich auch die beiden Kerne vereinigen bei der Konjugation. Die Vereinigung geht so vonstatten, daß die Kerne mit fortschreitender Reifung der Zygote einander näher rücken, bis sie zusammentreffen. Das kann oft erst nach Wochen geschehen (Klebahn, 88). Sie platten sich dann gegenseitig ab und verschmelzen zu einem Kern mit einem einzigen Nucleolus (Overton, 88). Vor der Verschmelzung lösen beide Kopulationskerne ihre Membran auf (Chemielewski, 98). Nach einer Ruheperiode beginnt der Zygotenkern sich zu teilen; und zwar findet, wie übereinstimmend in allen neueren Arbeiten festgestellt wurde, eine Reduktionsteilung statt. Den Prozeß der Tetradenteilung hat bereits Chemielewski (90) beobachtet. Doch wußte man zu seiner Zeit noch nichts

von Reduktionsteilung. Seine Angaben fanden daher nicht viel Glauben, zumal Tröndle (07) immer nur einen Kern in der Zygote von *Spirogyra* sehen konnte. Und doch hat Chemielewski bereits ganz richtig die Entstehung von vier Kernen in der Zygote beobachtet. Allerdings blieb ihm deren Bedeutung noch rätselhaft, zumal er eine folgende Verschmelzung von je zweien der Kerne oder aller miteinander zu einem einzigen zu sehen glaubte. Er deutete das als einen zweiten Befruchtungsvorgang und sagt wörtlich: »Bei den Arten von *Spirogyra* sehen wir daher, daß die Befruchtung quasi zweimal sich vollzieht, erstens bei der Kernverschmelzung der primären Kerne und zweitens bei Verschmelzung der sekundären. Die Verschmelzung der Kernelemente des mütterlichen und väterlichen Organismus vollzieht sich bei Verschmelzung der primären Kerne. Diese Verschmelzung müßte man für eine geschlechtliche halten, wenn nicht gleich nachher eine Vermehrung des verschmolzenen Kernes beginnen würde zwecks Hervorbringung zweier wieder verschmelzender sekundärer Kerne und zweier Richtungskerne. Die sekundären Kerne muß man gemäß einiger Hypothesen hauptsächlich für geschlechtliche halten, da ihre Entstehung durch Bildung von Richtungskörpern begleitet wird. Kurz und gut, in den Zygoten von *Spirogyra* stoßen wir auf Erscheinungen, welche unsre Vorstellungen von der Befruchtung verwirren. Und in der Tat, welche von den Kernverschmelzungen muß man für die geschlechtliche halten, die erste oder die zweite?« (angeführt nach Tröndle [11], S. 596). Wahrscheinlich infolge des verschiedenen Verhaltens der einzelnen Species kam Tröndle (07) zu abweichenden Resultaten. Er deutete den einzigen Kern im jungen Keimling als den durch den Kopulationsprozeß entstandenen Zygotenkern. Denn eine Teilung des Verschmelzungskerns hatte er nie beobachtet. Später hat freilich Tröndle (11) diese Angaben selbst berichtigt. Er konnte dann ebenso wie Karsten (09) die Chemielewskische Angabe über die Entstehung von vier Kernen in der Zygote von *Spirogyra* bestätigen. Die Tetradenteilung des Kerns verläuft nach Karsten (09) in folgender Weise: Bei beginnender Teilung quillt der Nucleolus stark auf und entläßt helle Ballen in das Plasma, die sich oft an den Kernpolen ansammeln, aber nichts mit Centrosomen zu tun haben. Die übrige Masse des Nucleolus verdichtet sich zu einem Band, das sich in einem typischen Synapsisstadium in die Chromosomen zerlegt. Den Übergang zur nächstfolgenden Phase der Teilung konnte Karsten nicht beobachten. Er sah nur als Resultat die Bildung von 14 über den ganzen Kernraum verteilten Vierergruppen, die wohl nichts andres sind als 28 längsgespaltene, paarweise zusammenliegende Chromosomen. Dieses Stadium entspricht der

Diakinese. Die Längsspaltung der Chromosomen wird wieder rückgängig gemacht. Die Doppelchromosomen dringen nach der Mitte der Kernteilungsfigur vor und bilden dort die Kernplatte, während gleichzeitig die Spindel erscheint. Sie ist ursprünglich mehrpolig, wird aber bald durch parallele Verlagerung ihrer Fasern zweipolig. Charakteristisch ist die außerordentliche Länge der Spindelfasern. Sie erstrecken sich oft über den ganzen Zygotenraum, sodaß auch die Chromosomen nicht in einer Platte oder einem Ring auseinanderweichen, sondern in langen Zügen hintereinander. Jeder Tochterkern bekommt die Hälfte der ursprünglich vorhandenen Chromosomenzahl, also 14. An ihnen wird nun wieder die Längsspaltung sichtbar. Während sie beginnen sich zusammenzuballen, und während noch Reste der alten Spindel vorhanden sind, erscheinen zwei neue Spindeln in einem Winkel von 90° zur alten. Bei der nun folgenden homöotypischen Teilung trennen sich die Längshälften der Chromosomen voneinander. Dadurch ist der vegetative Zustand wieder hergestellt. Wir haben als Resultat der zwei Teilungen vier Kerne mit je 14 Chromosomen in der Zygote. Was aus diesen vier Kernen weiter wird, das verfolgte Tröndle (11). Er sah drei von ihnen degenerieren, während der vierte allein erhalten blieb und zum Kern des Keimlings wurde.

Damit ist der Verlauf der Reduktionsteilung in den Zygoten von *Spirogyra* einwandfrei festgestellt. Ich möchte aber noch einen abweichenden Modus der Reduktionsteilung erwähnen, den Tröndle (11) bei *Spirogyra longata* und *calospora* sah. Da soll nämlich die eigentliche numerische Reduktion der Chromosomen nicht in der ersten Teilung erfolgen, sondern in der zweiten, der sonst homöotypischen.

Bei *Zygnema* findet sofort nach erfolgter Kopulation auch eine Kernverschmelzung statt. Dabei sah Ikeno (94) die beiden Kerne Anastomosen und Verbindungsfäden untereinander herstellen, während Kurssanow (11) nichts davon sehen konnte. Vielmehr sollen sich auch hier die Kerne gegenseitig abplatten wie bei *Spirogyra* und ihre Membran zuerst an der Stelle auflösen, wo die beiden Kerne sich berühren.

Entsprechend dem früher Gesagten gehen die Chromosomen aus dem Netzwerk hervor. Synapsis und Diakinese, zwei für die Reduktionsteilung charakteristische Phasen, konnte Kurssanow beobachten. Nur sah er keine Längsteilung des Kernfadens im Stadium der Synapsis. Ebenso wenig gelang es ihm, eine Vereinigung von je zwei Chromosomen (die numerische Reduktion) direkt zu beobachten. Er zweifelt aber nicht daran, daß eine solche stattfindet. Denn von den ursprünglich vorhandenen 25 bis 28 Chromosomen rücken nur 12 oder 14 in die Äquatorialebene.

Nach erfolgter homöotypischer Teilung erzeugen die Chromosomen Anastomosen untereinander und bilden sich so zum Netzwerk des Kerns um, entsprechend ihrer Entstehungsweise.

Von den vorhandenen vier Kernen nimmt einer an Größe und Umfang zu, die drei andern degenerieren. Sie werden zu den Kleinkernen im Sinne von Klebahn (siehe Desmidiaceen). Nicht selten verschwinden nur zwei Kerne und zwei bleiben als Großkerne zurück. Aus solchen Zygoten entsteht dann ein zweikerniger Keimling. Zweikernigkeit findet sich selbst in älteren *Zygnema*-Fäden nur selten und dann meistens als pathologischer Zustand, sodaß es interessant gewesen wäre, über das Schicksal der zweikernigen Keimlinge etwas zu erfahren.

Über das Verhalten der Zygotenkerne von *Mougeotia* wissen wir so gut wie nichts. Klebahn (88) sah zwei Kerne nach der Kopulation, konnte aber deren Schicksal nicht verfolgen.

Noch viel spärlicher lauten die Angaben über die Mesotäniaceen. Auch hier war es Klebahn (88), der in den jungen Sporen von *Cylindrocystis Brébissonii* einen einzigen Kern sah mit zwei Nucleolen. Daraus schloß er, daß es sich hier um das Verschmelzungsprodukt zweier Kerne handelte.

Aus der Zygote der Mesotäniaceen gehen vier Keimlinge hervor. Folglich muß man annehmen, daß der Verschmelzungskern ebenfalls eine Tetradenteilung durchmacht, die — nach Analogie mit Zygnemaceen und Desmidiaceen — eine Reduktionsteilung sein wird.

Dagegen gibt Klebahn (91) ausführlicher Bericht über die Kerne in den Zygoten der Desmidiaceen.

Hier findet die Vereinigung der Zygotenkerne ganz kurz vor der Keimung statt, sodaß Klebahn (88) mit der Möglichkeit rechnete, daß die Kerne überhaupt nicht miteinander verschmelzen. Er konnte selbst in reifen Zygoten noch zwei getrennte Kerne sehen.

Bereits de Bary hatte aber bei *Staurastrum* festgestellt, daß die Kerne beim Verschmelzen der beiden Zellen mehrmals in Berührung traten. 1891 sah dann Klebahn die Verschmelzung der Kerne in der Zygote von *Closterium*.

Nach der Vereinigung beginnt der Kern sofort sich auf karyokinetischem Wege zu teilen. Die Kernspindel zeichnet sich dabei aber nicht wie bei *Spirogyra* und *Zygnema* durch besondere Länge aus, sondern sie wird im Gegenteil durch die beiden in der Mitte der Zygote zusammenschließenden Chromatophoren von den Spindelpolen her fast zu einer Scheibe zusammengedrückt und in die Breite gequetscht, sodaß sie ringsum die Zygotenwand berührt. Auf die erste Mitose folgt eine

zweite. Als Resultat haben wir vier Kerne, in jeder Halbkugel zwei. Der eine ist jeweils größer als der andre. Klebahn bezeichnet ihn als Großkern, den andern als Kleinkern. Die Kleinkerne verschwinden gleich nach dem Ausschlüpfen der Keimlinge. Ob sie mit den Großkernen verschmelzen oder im Plasma aufgelöst werden, läßt Klebahn dahingestellt. Das erstere hält er für wahrscheinlicher. Denn bei *Cosmarium*, wo der Vorgang in der Zygote ziemlich der gleiche ist wie bei *Closterium*, sah er den Kleinkern sich dem Großkern nähern. Bald darauf enthielt der Großkern einen viel größeren Nucleolus, was Klebahn als die Folge der Verschmelzung ansah. Bei Parthenosporen, die natürlich nur einen Keimling haben, beobachtete Klebahn auch eine doppelte Mitose. Das Resultat waren dann vier Kerne, darunter aber nur ein Großkern. Er vermutete, daß auch hier die drei Kleinkerne mit dem Großkern verschmolzen seien. Dadurch bekäme der Kern des Keimlings — hier nur ein Keimling, nicht wie unter normalen Verhältnissen zwei — das Vierfache der normalen Chromosomenzahl. Die numerische Reduktion soll dann dadurch zustande kommen, daß einzelne Kernsegmente mit einander verschmelzen. Nach allem, was wir über die Befruchtung wissen, ist aber anzunehmen, daß keine Verschmelzung der vier Kerne stattfindet, sondern daß die überschüssigen Kerne, zu denen keine Zellen gebildet werden, die Kleinkerne, degenerieren. Diese Annahme ist umso mehr berechtigt, als die Degeneration der Kleinkerne bei *Spirogyra* und *Zygnema* bereits beobachtet wurde.

c) Systematische Bedeutung des Kerns.

Überschauen wir die Resultate der cytologischen Forschungen über Konjugatenzygoten, so finden wir für diese Familie ein sehr charakteristisches Verhalten der Kerne, das allerdings in Einzelheiten variiert, aber gerade dadurch eine Stufenleiter von einer Gruppe zur andern darstellt.

Ganz verschieden verhalten sich die einzelnen Glieder der Konjugaten in bezug auf die Verschmelzung der Kerne. Mit der Konjugation zweier Zellen ist eine Vereinigung ihrer Kerne verbunden. Bei *Zygnema* folgen diese beiden Vorgänge unmittelbar aufeinander, während bei *Spirogyra* erst 3—4 Wochen — bei manchen noch später — nach erfolgter Kopulation auch die Kerne verschmelzen. Noch weiter gehen die Desmidiaceen. Hier findet erst unmittelbar vor der Keimung die Kernverschmelzung statt. Wir haben mit andern Worten bei *Zygnema* und *Spirogyra* eine Zygote mit einem diploiden Kern, bei Desmidiaceen ein Zygote mit zwei haploiden Kernen.

Der junge Keimling, der nach einer Ruheperiode aus der Zygote ausschlüpft, ist überall haploid. Es muß aber zwischen der Kernverschmelzung und der Keimung einer Reduktionsteilung stattfinden. Wie die Erfahrung lehrt, vollzieht diese sich innerhalb der Zygote kurz vor der Keimung, und zwar bei allen Konjugaten mit einziger Ausnahme von *Spirogyra* in gleicher Weise. Zu den entstehenden vier Kernen werden bei den Mesotäniaceen auch vier Zellen gebildet, wir haben vier Keimlinge. Bei Desmidiaceen bildet die Zelle nur eine Querwand, es entstehen zwei Zellen, zwei Keimlinge. Jede dieser Zellen bekommt einen Kern, den KLEBAHN Großkern nannte. Die beiden andern Kerne, die Kleinkerne, degenerieren und lösen sich im Plasma auf. Bei Zygnemaceen endlich bleibt nur ein Kern von den vier durch die Reduktionsteilung entstehenden erhalten, die andern drei degenerieren. Aus der Zygote kommt nur ein Keimling hervor. Wie die Morphologie beweist, steht es außer allem Zweifel, daß die Mesotäniaceen auf einer primitiven Entwicklungsstufe stehen geblieben sind, während sich die Desmidiaceen und Zygnemaceen ungemein vielfältig und formenreich weiter entwickelten. Da aber auch die Zygnemaceen noch vier Kerne in der Zygote ausbilden, während jegliche Zellteilung dazu unterbleibt, wollte KURSSANOW das Entstehen dieser vier Kerne als Atavismus auffassen, als einen Rückschlag zum Mesotäniaceentypus. Das ist natürlich nicht angängig. Die Bildung von vier Kernen ist vielmehr einzig und allein eine Folge der durch den Geschlechtsprozeß notwendig gewordenen Reduktionsteilung. Mit zunehmender Organisationshöhe wurde dann die Zahl der zu den vier Kernen abgeschnürten Zellen immer geringer, bis bei den Zygnemaceen die Teilung der Zygote überhaupt ganz unterblieb.

Das Verhalten der Kerne bei der für die Konjugaten so sehr charakteristischen Kopulation zeigt also bei den drei Untergruppen der Konjugaten weitgehende, gesetzmäßige Übereinstimmungen. Charakteristisch ist vor allem der Zeitpunkt, an dem die Reduktionsteilung einsetzt, nämlich unmittelbar vor der Keimung — das ist ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal gegenüber den Diatomeen —, die stark verlängerte Form der Kernspindel und das Degenerieren der überflüssigen Kerne bei den Desmidiaceen und Zygnemaceen. Wir können somit nicht umhin, die unter dem Namen Conjugatae zusammengefaßten Organismen auch in cytologischer Hinsicht als nahe Verwandte zu betrachten.

Es ist deshalb kein Grund vorhanden, die Desmidiaceen aus dem ziemlich einheitlichen Gebäude der »Acontae« im Sinne von OLTMANNS

(Diatomeen freilich außer Betrachtung) herauszureißen und ihnen ganz isoliert ein Plätzchen am Schlusse der verschiedenen »Kontae« anzuweisen. wie es Lotsy in seiner botanischen Stammesgeschichte tut.

II. Diatomeen.

Wie schon die ersten Beobachter (Lüders [62], Schaarschmidt [83]) sahen, liegt der Kern der Diatomeen inmitten einer Plasmabrücke, welche von einer Schalenmitte zur andern zieht. Er ist umgeben von einer deutlich sichtbaren Membran. Sein Chromatin ist in Form von Klümpchen im Netzwerk verteilt.

Bütschli (91) beschrieb für den ruhenden Kern von *Surirella* zum erstenmal ein Centrosom. Er fand es als Mittelpunkt einer Plasmastrahlung in der Einbuchtung des nierenförmigen Kerns. Lauterborn (96) weist auf enge Beziehungen zwischen Kern und Centrosom hin. Beide bleiben beim Isolieren des Kerns durch Druck oder Zerzupfen der Zelle beisammen. Im ruhenden Zustand konnte er ebensowenig wie Karsten (00) Plasmastrahlungen sehen. Lauterborn deutet das Centrosom als »kinetisches Centrum, von dem beim Beginn der Kernteilung Wirkungen auf Kern und Plasma ausgehen, die morphologisch als Strahlungserscheinungen um das Centrosom in Erscheinung treten« (S. 75).

Die Kernteilung verläuft — soweit bis jetzt bekannt — bei fast allen Diatomeen gleich, und zwar in sehr charakteristischer und eigentümlicher Weise, die hier näher für *Surirella* (Lauterborn, 96) geschildert werden soll. Eigentümlich ist sie deshalb, weil die Spindel außerhalb des Kerns angelegt wird und in fast fertigem Zustand durch die Membran in den Kern eindringt. Eigentümlich auch darum, weil die Kernspindel nicht, wie wir sonst annehmen, aus Cytoplasma gebildet wird, sondern nach Lauterborn durch Knospung aus dem Centrosom entsteht, nach Karsten (00), (12) durch Umbildung des Centrosoms selbst. Lauterborn hat ihr hier den Namen Centralspindel gegeben. Das ist umso mehr berechtigt, als sie auch in ihrer Form (garbenförmig) von einer gewöhnlichen Kernspindel abweicht. Das Centrosom verschwindet, bevor die Spindel ganz in den Kernraum eindringt. Lauterborn beobachtete aber an den beiden Polen der Spindel ein dunkles Kügelchen, welches seiner Ansicht nach später zu je einem neuen Centrosom wird. Karsten (00) dagegen läßt die neuen Centrosomen aus den Resten der Centralspindel entstehen.

Während der Teilung befindet sich der Kern nicht mehr in der Mitte der Zelle, sondern wird durch Plasmaströmungen an das breitere Zell-

ende geführt. Er zeigt oft dreieckige Form. Eine Ecke ist nach dem Centrosom hin gerichtet. Das betrachtet Lauterborn ebenfalls als eine Folge der vom Centrosom ausgehenden Zugwirkung.

Die Bildung der Chromosomen geht so vor sich, daß die Chromatinkörner des Netzwerks sich zu perlschnurförmigen Fäden hintereinanderreihen. Diese Fäden segmentieren sich in mehr oder weniger lange, schleifenförmige Abschnitte. Kurz vor ihrer Längsspaltung in der Äquatorialebene haben die Chromosomen U- oder C-förmige Gestalt und sind bedeutend dicker als ursprünglich. Die längsgeteilten Schenkel eines Chromosoms stellen im Querschnitt Vierergruppen dar. Das Auseinanderweichen der Chromosomenhälften geschieht in ringförmiger Anordnung um die Centralspindel. Nach dem Auseinanderweichen schnürt jeder Chromosomenring den zu ihm gehörigen Spindelpol von dem mittleren Teil der Centralspindel ab, und zwar dadurch, daß der Chromosomenring sich zu einer Scheibe vergrößert. Vermutlich werden dann die Fasern des mittleren Spindelteils in die polaren Spindelkörper einbezogen.

Um diese Zeit liegen die Kerne wieder in der Mitte der Zelle. Sie kehren ihre größte Oberfläche, die Seite mit der Einbuchtung, in der sich auch das Centrosom befindet, der neuen Schale zu. Nachdem dann die Chromosomen sich aufgelöst haben in ein Geflecht von Strängen und Chromatinkörnern, erfolgt eine weitere Drehung des Kerns um 90°, diesesmal in entgegengesetzter Richtung. Dann ist der Ruhezustand wieder erreicht, der Kern kehrt seine größere Außenfläche der Breitseite der Zelle zu. Die Centralspindelreste werden wahrscheinlich in die beiden neuen Centrosomen aufgenommen, falls sie sich nicht überhaupt zu diesen umbilden.

Die Vorgänge bei der Auxosporenbildung der Diatomeen hatte schon sehr früh die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich gelenkt. Klebahn (96) verfolgte das Verhalten der Kerne bei *Rhopalodia gibba.* Er beschreibt eine zweifache Kernteilung in jedem der beiden kopulierenden Individuen. Die dadurch entstandenen vier Kerne werden verteilt auf zwei durch eine Zellteilung aus jedem Individuum gebildete Gameten. Jeder enthält einen »Groß-« und einen »Kleinkern« (im selben Sinne wie bei den Konjugaten). In diesem Zustand verschmelzen die beiden Gameten mit den beiden andern. Die Großkerne vereinigen sich, die Kleinkerne degenerieren. Wir haben als Resultat zwei Zygoten mit je einem diploiden Kern.

Bei *Surirella saxonica* entsteht nach Karsten (00) nur eine Zygote. In jedem Gameten wird nur ein Großkern, dagegen drei Kleinkerne gebildet.

Die eigentliche Reduktionsteilung, welche mit der Gametenbildung verknüpft ist, wurde erst 1912 von Karsten in einwandfreier Weise nachgewiesen. Er sah die für die Reduktionsteilung charakteristischen Stadien der Synapsis und der Diakinese. Bei der Synapsis liegen die Kernfäden auf der dem Centrosom abgekehrten Seite. Karsten glaubt das auf eine vom Centrosom ausgehende Kraft zurückführen zu müssen. Er zählte bei *Surirella saxonica* etwa 120 Chromosomen, die sich paarweise zusammenlegen und dadurch die numerische Reduktion bewirken. Denn er konnte nachher nur noch 64 bis 65 Doppelstäbchen wahrnehmen. Diese Stäbchen bilden, wie das auch Lauterborn beschrieb, einen Ring um die Centralspindel und stehen senkrecht auf der Oberfläche der Spindel.

Auf diese erste Teilung folgt bald die homöotypische, deren Centralspindel nach Karsten (00) aus den Resten der ersten Spindel hervorgeht. Von den vier entstandenen Kernen mit haploider Chromosomenzahl degenerieren bei *Surirella* drei. Nur einer bleibt zurück als Großkern und verschmilzt mit dem Großkern der kopulierenden Zelle, sodaß nach ganz kurzem Haploidstadium gleich wieder die 2 x Generation hergestellt ist.

Da wäre denn die notwendige Folge, daß wir unsere Auffassung über die Verwandtschaft der Diatomeen und Konjugaten, die Oltmanns zu begründen suchte, aufgeben. Den Diatomeen wäre auf Grund der diploiden Natur ihrer Kerne eine höhere Stellung im System der Algen einzuräumen als den Konjugaten. Lotsy hat das schon durchgeführt. Er trennte die Diatomeen von den Konjugaten und stellte sie in die Nähe der Phäophyceen.

Die auf den ersten Anblick so viel Gemeinsames zeigende Kopulation bei den Konjugaten und Diatomeen ist im Grunde genommen bei beiden doch recht verschieden. Bei den Diatomeen wird die Gametenbildung durch eine Reduktionsteilung eingeleitet, während bei den Konjugaten einfach zwei Zellen im Zustand der Ruhe verschmelzen.

Die Bildung von Groß- und Kleinkernen darf bei den beiden Familien nicht als Zeichen einer Verwandtschaft gedeutet werden. Sie ist einzig und allein eine Folge der Reduktionsteilung, welche hier nur mit einer oder gar keiner Zellteilung verknüpft ist. Dadurch werden zwei oder drei Kerne überflüssig und müssen degenerieren. Da aber die Reduktionsteilung bei beiden Familien auf ganz verschiedenen Entwicklungsstufen eintritt, spricht das eher »gegen« als »für« eine Verwandtschaft von Konjugaten und Diatomeen, ganz abgesehen von den vielen sonstigen Unterschieden.

Allerdings haben wir auch Spirogyren kennen gelernt (*calospora* und *longata*), bei denen die numerische Reduktion der Chromosomnen erst in der zweiten Teilung, der sonst homöotypischen, auftritt. Hier bestünde also der diploide Zustand schon etwas länger. Doch sind das nur Variationen innerhalb ein und derselben Gruppe, die man nicht etwa als Rückbildung des Diatomeentypus oder eine fortschreitende Entwicklung des Konjugatentypus betrachten darf. Wir halten also an unsrer Überzeugung fest, daß die Konjugation der Diatomeen und Konjugaten außer einer äußeren Ähnlichkeit cytologisch kaum etwas Gemeinsames hat.

Ebensowenig kann man Parallele ziehen zwischen den Konjugaten und Diatomeen auf Grund des Baues der Kerne in vegetativen Zellen. Man denke nur an das Centrosom und die sonderbare Centralspindel der Diatomeen und deren Einfluß auf die ganze Kernteilung; anderseits an die normal gebauten und normal sich teilenden Kerne der Desmidiaceen. Der Bau der Kerne in vegetativen Diatomeenzellen zeigt eher Anklänge an manche niedere Organismen (Centralspindel, Centrosom mit Plasmastrahlung).

Wir wissen heute weniger denn je, wo wir die Diatomeen im System unterbringen sollen. Die Cytologie bedingt ihre Trennung von den Konjugaten. Vielleicht ist es doch nicht so ganz von der Hand zu weisen, wenn wir die Diatomeen mit Lotsy den Phäophyceen näher bringen. Das Vorhandensein des Centrosoms bei beiden Gruppen spräche dafür neben dem braunen Farbstoff. Doch scheinen die Centrosomen bei Phäophyceen und Diatomeen ganz verschiedene Funktionen zu haben. Bei den Phäophyceen sind sie lediglich kinetische Centren, die nur indirekt die Spindelbildung beeinflussen, während bei den Diatomeen die Spindel direkt in genetischem Zusammenhang steht mit dem Centrosom, mag man nun annehmen, daß das Centrosom selbst sich in die Centralspindel umbildet, oder daß die Spindel durch Teilung aus dem Centrosom entsteht. Immerhin reichen die Analogien in beiden Familien doch nicht so weit, daß man ernstlich an einen Zusammenschluß der Phäophyceen und Diatomeen denken könnte. Die morphologischen Unterschiede sind zu groß. Näheres darüber gebe ich bei der Besprechung der Phäophyceen (IX).

Mit einer Familie, welche nach den neuesten Untersuchungen von Klebs (12) als Übergang zwischen Flagellaten und Algen in Betracht kommt, werden die Diatomeen auch vielfach in Beziehung gebracht, mit den Peridineen. Besonders Schütt begründet diese Zusammengehörigkeit mit der bei beiden Familien vorkommenden Zweischaligkeit.

Eine Zeitlang glaubte man noch andere tiefgreifende Ähnlichkeiten entdeckt zu haben, als Zederbauer (04) und Entz (07) Kopulationsvorgänge bei Peridineen beobachtet haben wollten. Doch betrachtet man heute den Nachweis einer Sexualität bei Peridineen als noch nicht erbracht.

Eine Form mit Kieselskelett, Monaster, könnte eventuell als Übergang zwischen Peridineen und Diatomeen in Betracht kommen. Es wäre vielleicht nicht aussichtslos, auch einmal die Cytologie der beiden Gruppen einer vergleichenden Betrachtung zu unterziehen. Dieser Betrachtung will ich zur Orientierung eine Literaturübersicht über die Peridineenkerne vorausschicken.

III. Peridineen.

Über die Peridineen, die wie die Diatomeen Schmerzenskinder der Systematiker sind, liegen besonders aus neuerer Zeit eingehende cytologische Untersuchungen vor.

»Der Zellkern der Peridineen stellt ein sehr charakteristisches Gebilde vor, das sich von dem gleichen Organ andrer niederer Organismengruppen deutlich unterscheidet. Allerdings bestehen auch heute noch große Gegensätze in der Auffassung über den eigentlichen Bau des Zellkerns«. Diese Worte stellt Klebs (12) S. 416 dem Kapitel über Kerne voran.

Die Kerne der allermeisten Peridineen sind aus parallel verlaufenden Fäden zusammengesetzt. So wurden sie schon von den ersten Beobachtern beschrieben: Allmann (55) und Pouchet (83). Klebs (83, 84) sah noch eine feine Querrunzelung der Kernfäden. Bei Behandlung mit Wasser zerfielen sie in bakterienähnliche Stäbchen. Bütschli (84), Lauterborn (95) und Borgert (10) nahmen Anastomosen zwischen den einzelnen Fäden wahr. Die Kerne hatten dadurch das Aussehen eines Netzwerks. Bütschli und Lauterborn deuten die Fäden und die Anastomosen als Wände eines Wabenwerks. Ihnen schließen sich Jollos (10) und Entz (07) an.

Schütt (96) dagegen und Dogiel (06) fassen die parallelen Kernfäden als Röhren auf. Bisweilen sahen sie zwei dieser Fäden ineinandergeschachtelt.

Klebs (12) beschreibt Formen mit fädigem und solche mit körnigem Kernbau. Die Fäden sind bereits im Leben zu erkennen, noch besser natürlich an fixiertem Material. Zumeist sind sie zu einem dichten Knäuel verschlungen. Die Kerne, die sich Klebs als körnig gebaut zeigten, sieht er nur als Modifikationen des Fadentypus an: »Alle diese Variationen würden sich am einfachsten verstehen lassen, wenn man von der An-

schauung ausgeht, daß überall die Chromatinmasse fadenförmig ist, daß aber die Fäden bald dicker, bald dünner, bald lockerer, bald enger miteinander verschlungen sind« (S. 421).

Weder KLEBS (12) noch die meisten früheren Forscher konnten an Peridineenkernen eine Membran sehen. JOLLOS (10) wollte zwar an *Gymnodinium fucorum* im Leben ein Häutchen um den Kern bemerkt haben, doch war ein solches nach der Fixierung und Färbung, wo es doch schärfer hervortreten sollte, nicht zu sehen. Dagegen beschreibt DOGIEL (06) für zwei Formen eine Membran um den Kern; für *Gymnodinium spirale* und *Pouchetia armata*.

Nucleolen kommen ebenfalls nicht bei allen Peridineen vor. Den fädig gebauten Kernen sollen sie nach KLEBS (12) zumeist abgehen. Die feinkörnig gebauten Kerne weisen dagegen fast immer Nucleolen in Ein- oder Mehrzahl auf. Diese können oft buckelartig über die Peripherie des Kerns hervorragen, wie von LAUTERBORN (95), BORGERT (10) und KLEBS (12) beschrieben wurde. Solche Nucleolen liegen dann »in besondern Taschen, die nach außen nicht von Kernsubstanz bedeckt sind« (KLEBS [12], S. 420). Durch Druck kann man die Nucleolen aus dem Kern herauspressen. An ihrer Stelle bleibt dann ein scharf umschriebener, heller Fleck im Kern zurück.

JOLLOS (10) mißt den Nucleolen einiger Peridineen ganz besondre Bedeutung bei. So soll nach ihm der Nucleolus von *Gymnodinium* die Funktion eines Karyosoms besitzen. Das Wort Karyosom wird hier allerdings in etwas freier Weise gebraucht. HARTMANN (10) versteht unter Karyosom eine homogene Kugel, in der alle Kernsubstanz: Chromatin und Plastin (Nucleolarsubstanz) vereinigt ist. So ein Karyosom ist nach demselben Autor gegen das Plasma durch einen hellen Ring, die Kernsaftzone (Außenkern) abgegrenzt. Schlechthin spricht man von einem bläschenförmigen Kern. Was aber JOLLOS bei *Gymnodinium* unter einem Karyosom versteht, deckt sich keineswegs mit dieser Definition. Denn der Außenkern von *Gymnodinium* enthält das Chromatin in Form eines feinen Wabenwerks mit zahlreichen Chromatinkörnchen. Der Nucleolus ist sogar im Gegensatz zu Karyosomen chromatinarm, unterscheidet sich aber von einem normalen Nucleolus durch das Vorhandensein einer Membran und eines Centriols. Letzteres konnte JOLLOS allerdings zumeist nur während der Teilung beobachten. Da sich der Nucleolus bei der Teilung nicht auflöst, sich vielmehr nach der Art der Nucleolen der Siphonocladiales und Siphonales teilt, und weil JOLLOS in ihm ein Centriol gesehen haben wollte, deshalb taufte er ihn »Karyosom«, obwohl man darunter, wie ich eben zeigte, etwas ganz andres versteht.

Für einen typischen Karyosomkern ist charakteristisch, daß sich das eigentliche Karyosom (sonst Nucleolus) zuerst teilt. Auch das trifft bei *Gymnodinium* nicht zu. Vielmehr schnürt sich nach vorhergegangener Teilung des Centriols zuerst der Außenkern durch, wobei die aus ihm hervorgegangenen Chromosomen quergeteilt werden. Dann erst teilt sich der Nucleolus und bildet noch lange die Verbindung zwischen den beiden Kernhälften. Die Hälften des Centriols bleiben ebenfalls verbunden durch eine sogenannte Centrodesmose. Senn (11) beschreibt auch für *Oxyrrhis marina* einen Karyosomkern, aber ohne Centriole. Er mißt allerdings dem Karoysom lange nicht die Bedeutung bei, die ihm Jollos zuspricht. Denn auch bei *Oxyrrhis* teilt sich der (hier chromatinarme) Außenkern zuerst und nachher erst das Karyosom. Man kann demnach dem Karyosom keineswegs eine kinetische Rolle bei der Kernteilung zuschreiben.

Spindelbildung konnte weder Jollos noch sonst einer der Peridineenforscher beobachten. Allerdings sah Jollos an »kleinen Schwärmern«, die er für eine Entwicklungsstufe von *Gymnodinium* hielt, eine Spindel, die aber nur kurzen Bestand hatte und aus dem Karyosom hervorgegangen sein sollte. Es ist aber mehr als fraglich, ob diese kleinen Schwärmer wirklich Entwicklungsstufen von *Gymnodinium* waren und nicht *Bodo* ähnliche Flagellaten.

Jollos faßt die Peridineen auf Grund ihrer Cytologie systematisch zusammen. Wegen des »Karyosomkerns« betrachtet er *Gymnodinium* als am niedrigsten stehend unter den Peridineen. Ihm folgte nach oben *Ceratium*. Dort sind die Kernkörperchen bereits echte Nucleolen. Daneben soll jedoch im Kern immer noch ein Centriol vorhanden sein, das Jollos aber nur schwer und selten nachweisen konnte. Wie bei *Gymnodinium* werden aber auch hier noch keine eigentlichen Chromosomen ausgebildet, sondern die bereits im ruhenden Zustand sichtbaren Fäden, die nicht einmal in konstanter Zahl auftreten sollen, werden einfach quergeteilt. Als am höchsten entwickelte Peridinee faßt Jollos *Gonyaulax* auf. Dort werden regelrechte Chromosomen ausgebildet und diese längsgespalten. Zweifellos stimmt diese Reihenfolge. Wenn man auch über das »Karyosom« von *Gymnodinium* streiten kann, so ist doch so viel sicher, daß *Gymnodinium* den primitivsten Kernbau von den uns bekannten Peridineen aufweist. Von ihm führen alle möglichen Übergänge bis zu dem »normal« gebauten Kern von *Gonyaulax*. Die in bezug auf den Kernbau festgestellte progressive Entwicklung äußert sich aber auch in morphologischer Hinsicht, sodaß hier die Cytologie einen für systematische Zwecke nicht zu unterschätzenden Faktor bedeutet.

Im allgemeinen gilt als Regel bei den Peridineen, daß die Chromosomen quer gespalten werden (Lauterborn [95], Borgert [10], Jollos [10]). Deshalb spricht auch Lauterborn nicht von einer Mitose, sondern von einer Art Übergang zwischen Mitose und Amitose. Borgert (10) beobachtete aber neben der Querteilung der Chromosomen noch eine Längsspaltung. Jollos (10) konnte davon an demselben Objekte nichts wahrnehmen.

Die Längsspaltung wird nach Borgert (12) bei *Cer. tripos* bereits im Knäuelstadium sichtbar und bleibt während der Querteilung der Chromosomen in der Äquatorialplatte erhalten. Erst beim Auseinanderweichen der Chromosomen trennen sich auch deren Längshälften von einander. Wir haben also die doppelte Chromosomenzahl in den Tochterkernen. Es müßte auf jede indirekte Kernteilung auch wieder eine Reduktion folgen. Diese soll nach Borgert durch direkte Teilungen bewerkstelligt werden. Die direkten Teilungen unterscheiden sich von den Mitosen dadurch, daß keine Spaltung der Chromosomen eintritt. Die Chromosomenmasse wird bei der Durchschnürung des Kerns gleichsam in zwei Portionen zerlegt, von denen je eine einem Tochterkern zufällt. Jeder Tochterkern bekommt darnach nur noch die halbe Anzahl der mütterlichen Chromosomen.

Nach dieser Auffassung von Borgert wäre eigentlich das notwendige Postulat, daß auf jede Karyokinese unmittelbar eine Amitose folgte, die den haploiden Zustand wiederherstellte. Amitosen sind aber nach Borgerts eigenen Angaben ungleich spärlicher zu beobachten, als indirekte Kernteilungen. Sie wurden in diesem Sinne bisher überhaupt nur bei *Cer. tipos* beobachtet. Nun gibt aber neben Borgert auch Jollos eine ganz bedeutende Schwankung in der Chromosomenzahl der Peridineenkerne an. Demnach wäre es schon möglich, daß gelegentlich Individuen mit diploiden Kernen neben solchen mit haploiden Kernen vorkommen. Deshalb kann man Borgert (12) nicht widersprechen, wenn er die direkte Kernteilung als ein »regulatorisches Mittel« betrachtet, das dem übermäßigen Anwachsen der Chromosomenzahl entgegenwirkt. Immerhin hätten wir, wenn die Beobachtungen von Borgert sich bestätigten, bei den Peridineen ein eigentümliches Verhalten der Chromosomen, das im Hinblick auf die sonst geltende Zahlenkonstanz der Chromosomen etwas unwahrscheinlich klingt. Borgert vergleicht die Chromosomen von *Cer. tripos* mit denen gewisser tripylen Radiolarien, bei denen er ähnliche Verhältnisse gefunden hatte.

Wenn Borgert nicht ausdrücklich betonte und in einer weiteren Arbeit (12) bestätigte, er habe eine Längsspaltung der Chromosomen

neben der Querspaltung gesehen, könnte man annehmen, daß nur eine Vereinigung von je zwei Chromosomen in der Prophase stattgefunden habe. Tatsächlich sind auch die Gründe, die Borgert (10) gegen ein Zusammenlegen von Chromosomen anführt, nicht stichhaltig. Er meint, man müßte dann eine Auflockerung der Kernmasse wahrnehmen können. Ob das aber so gut zu sehen wäre, wie es Borgert wünscht, glaube ich nicht. Wo etwa 200 Chromosomen auf einen relativ kleinen Raum zusammengedrängt sind, wird kaum eine Auflockerung zu sehen sein, wenn nur ihre Zahl, nicht aber ihre Masse auf die Hälfte reduziert wird.

Wie schon erwähnt, konnte aber Jollos weder von einer Längsspaltung, noch von einer Vereinigung von Chromosomen bei *Ceratium fusus* etwas sehen. Doch ließe sich für die Borgertsche Auffassung noch das anführen, daß vielleicht die Chromosomen nicht längsspalten oder einzelne Chromosomen sich zusammenlegen, sondern daß jedes Chromosom aus zwei Stäbchen zusammengesetzt ist. Um die Chromosomenmasse dann gleichmäßig auf die Tochterkerne zu verteilen, werden die Stäbchen nicht auseinandergerissen, sondern jedes Chromosom quergeteilt. Abgesehen von diesem, uns noch nicht klaren Verhalten der Chromosomen, bleiben noch genug Eigentümlichkeiten, die gerade die Peridineen bei ihrer Teilung zeigen. Die Kernteilung ist so charakteristisch für diese Familie, daß Senn (11) auf Grund ähnlichen Verhaltens von *Oxyrrhis* bei der Teilung, diese von den Flagellaten trennte und zu den Peridineen stellte.

Jeder Peridineenkern fällt selbst in der Ruhe durch seinen Reichtum an Chromatin, durch die fadenförmige Anordnung des Chromatins und das Fehlen einer Membran auf. Die Querteilung der Chromosomen und das Fehlen einer Kernspindel bei der Teilung sind ebenfalls so bezeichnend, daß es schwer wird, die Peridineen mit einer andern Gruppe, seien das nun niedriger oder höher stehende Organismen, cytologisch in Beziehung zu bringen.

Zweifelsohne haben sie viele Anklänge an niedere Organismen, Flagellaten hauptsächlich. Klebs (12) sucht ihren Ursprung in den Cryptomonadinen, eventuell auch Chrysomonaden. Hier ist die Arbeit von Jollos insofern von Interesse, als ja Jollos ein Karyosom zu sehen glaubte mit Centriol, was eine Verwandtschaft der Peridineen mit Flagellaten wahrscheinlicher machte als mit Algen. Allerdings sind diese Angaben von Jollos noch keineswegs bestätigt.

Inwiefern die Cytologie die Annahme von Klebs (12) rechtfertigt, die Phytodiniaceen, eine bereits algenähnliche Familie, an Peridineen, und zwar *Hypnodinium*, anzuschließen, ist jetzt noch nicht zu entscheiden.

Am meisten werden die Peridineen noch mit den Diatomeen in Parallele gestellt. Es ist aber ein Ding der Unmöglichkeit, auf Grund der Cytologie irgend welche Analogien nachzuweisen. Leider sind mir keine cytologischen Untersuchungen über *Monaster* bekannt. Wie ich aber schon bei Besprechung der Diatomeen erwähnte, wäre *Monaster* wegen seiner Kieselschale vielleicht geeignet, einen Übergang zwischen den beiden Gruppen zu bilden. Für die Diatomeen ist das Centrosom und die Centralspindel ungemein charakteristisch. Von beiden scheint bei Peridineen nichts vorhanden zu sein. Das von Jollos beschriebene Centriol hat natürlich — schon seiner Lage im Kern nach — mit dem Centrosom der Diatomeen nichts gemeinsam.

Jedenfalls steht der Vorgang der Kernteilung bei den Peridineen einzig da und ist keineswegs mit dem der Diatomeen in Beziehung zu bringen. Das möge auch die Querteilung der Chromosomen und das Fehlen der Kernmembran bei den Peridineen illustrieren.

IV. Heterocontae.

Aus der großen Gruppe der Grünalgen schält Oltmanns eine Familie heraus, deren Schwärmsporen zwei ungleich lange Cilien haben, die Heterocontae. Oft kommt nur eine Cilie vor, niemals aber zwei gleich lange.

Unter »Heterocontae« fassen wir in bezug auf Kerne sehr heterogene Arten zusammen. *Conferva*, der Hauptvertreter der Gattung, ist einkernig. Eine Reihe andrer Vertreter weist mehrere Kerne in einer Zelle auf. Das gilt insbesondre für *Ophiocytium* und *Botrydium*. *Ophiocytium* stellt Oltmanns wegen des Membranbaues, *Botrydium* wegen der Ähnlichkeit der Schwärmsporen zu *Conferva*. Zweifellos haben *Ophiocytium* und *Conferva* in ihrem vegetativen Aufbau große Ähnlichkeiten. Die Vielkernigkeit von *Ophiocytium* ist allein kein Grund, es von *Conferva* zu trennen. Beide stammen nach Lotsy wahrscheinlich von einer einkernigen Form ab, der *Chloramoeba*. Folgt auf jede Kernteilung dieser Flagellate eine Zellteilung und bleiben die einzelnen Zellen in fadenförmigen Verbänden beisammen, so entstehen *Conferva* ähnliche Gebilde. Unterbleibt die Zellteilung, so entstehen vielkernige Individuen wie *Ophiocytium*. Da für Conferven auch Formen mit zwei Kernen beschrieben werden, z. B. *Binuclearia*, wäre diese Annahme Lotsys nicht von der Hand zu weisen. Jedenfalls ist die Zahl der Zellkerne hier für die Systematik nicht allein maßgebend. *Ophiocytium* stellt kein Mensch zu den Siphoneen, sondern man betrachtet es als eine Verwandte von *Conferva*,

obwohl nicht einmal Schwärmsporen, sondern nur Aplanosporen bekannt sind. Dagegen ist die Zugehörigkeit von *Botrydium* zu den Confervales mehr als zweifelhaft. *Botrydium* ist bei den Siphonales immer noch besser untergebracht als bei den Confervales. Unsere cytologischen Kenntnisse von Heteroconten sind zu gering, als daß wir an sie Betrachtungen über Verwandtschaften anschließen könnten. Schmitz (79) und Wille (87) begnügten sich damit, die Zellkerne überhaupt nachzuweisen.

Auch ich beschränkte mich darauf, meine Färbe- und Fixierungsmethoden an *Conferva* zu erproben. Ich habe den Eindruck, daß es sich hier um einen primitiven, bläschenförmigen Kern handelt. Es ist gar nicht einfach, in den mit Chromatophoren und fetten Ölen vollgepfropften Zellen der meist kleinzelligen Conferven überhaupt einen Kern zu sehen. Größere Formen von *Conferva*, die sich allein für cytologische Untersuchungen eigneten, standen mir nicht zur Verfügung. Auch Teilungen sah ich nicht, und nur an diesen könnte man eventuell Einblick bekommen in die Zusammensetzung des Kerns. Dagegen beobachtete ich des öfteren *Conferva*-Zellen mit zwei Kernen. Diese traten aber nur in besonders großen Zellen auf, die wohl auch an Alter die andern Zellen übertroffen haben. Das ist aber keine besondere Erscheinung, daß ältere Zellen zweikernig sind. Wir kennen noch mehr solche Fälle unter den Algen: *Chroolepus*, *Callithamnion*.

Für rasche Orientierungen kann ich die Chloralhydratmethode empfehlen. Man legt die Fäden nach erfolgter Färbung (Heidenhain) in eine Lösung von fünf Teilen Chloral in einem Teil Wasser. Dadurch verquillt der Zellinhalt und auch die Chromatophoren zerfließen, sodaß man den Kern in der Mitte der Zelle verhältnismäßig recht klar zu sehen bekommt.

V. Ulothrichales.

1. Ulothrichaceen.

Über den Bau der Kerne bei den Ulothrichaceen wissen wir wenig. Strasburger (76, 78) und Schmitz (79) erwähnen wohl das Vorkommen eines Zellkerns in jeder Zelle von *Ulothrix* und *Ulva*, machen aber keinerlei Angaben über dessen Bau. Nach einer kurzen Mitteilung von Haase (10) hat die Kernteilungsfigur von *Ulothrix subtilis* hantelförmige Gestalt, ähnlich der, wie sie uns später noch begegnen wird bei den Siphonocladiales und Siphonales.

Microspora.

Oltmanns bespricht mit *Ulothrix* noch einige unsichere Gattungen wie *Microspora* und *Hormidium*. In bezug auf deren Cytologie finde ich

nur eine Angabe bei WILLE (87) über »*Conferva amoena*« (*Microspora amoena*). »In der Mitte der Zelle fand sich, an einem Protoplasmafaden hängend, ein ziemlich großer, linsenförmiger, zuweilen beinahe runder Zellkern, dessen Längsachse wie bei *Spirogyra* lotrecht gegen die des Fadens gestellt war« (S. 439). Ein Kernkörperchen war sichtbar.

Das Kernkörperchen spielt nach WILLE bei der Teilung eine wichtige Rolle. Es nimmt bedeutend an Größe zu und schnürt sich dann in der Mitte durch. Haben die beiden Hälften den nötigen Abstand voneinander, so sammeln sie die übrige Kernsubstanz um sich und bilden mit ihr zusammen die Tochterkerne. WILLE spricht ihnen also die Bedeutung von »Attraktionscentra« zu. Die Tochterkerne hängen schließlich noch an einem Faden zusammen, der aus dem Plasma besteht, das die Kerne ursprünglich umgab.

Die durch Einschnürung gebildeten neuen Kerne »liegen nicht mehr in der Richtung der Längsachse des Fadens, sondern zuweilen in einer schiefen Stellung zu derselben« (S. 441).

In verschiedenen Ortschaften der Umgebung von Heidelberg tritt die *Microspora amoena* ziemlich häufig in Brunnentrögen mit ständig fließendem Wasser auf. Sie erscheint in größeren Mengen erst Mitte Juli und bleibt dann bis zum Eintritt von Frösten. Man erkennt sie schon makroskopisch an ihrer schmutzig braungrünen Farbe. Nur in der Jugend sind die Fäden frischgrün.

In ihrer Gesellschaft finden sich zumeist Diatomeen, die bisweilen so reichlich auf den Fäden selbst wachsen, daß diese gänzlich braun erschienen. Daneben kommt *Ulothrix*, *Spirogyra* und besonders *Conferva* (und *Hormidium*) vor, je nach dem Standort des Brunnens.

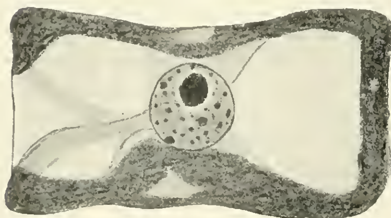
Zum Fixieren der *Microspora* benutzte ich mit Vorliebe 2% Chromsäure. Meist wurde das Material direkt an Ort und Stelle fixiert, und zwar zu allen Tages- und Nachtzeiten. Chromsäure eignet sich für diese Alge deswegen sehr gut, weil durch sie der Chromatophor ganz entfärbt wird und nachher bei der Betrachtung der Kerne nicht mehr so sehr stört, als wenn er durch die Osmiumsäure der FLEMMINGschen Fixierungsflüssigkeit noch dunkler wird, als er schon im Leben war. Meistens untersuchte ich fixiertes Material, versäumte aber auch nicht, zum Vergleich lebende Zellen heranzuziehen.

Die Zellen der mir vorliegenden Fäden von *Microspora amoena* maßen im Durchschnitt in der Länge 31 μ, in der Breite 24 μ; die Kerne 37 μ. Das Volumen der Kernmasse nimmt also $\frac{1}{45}$ der ganzen Zellmasse ein (Zelle als Cylinder nach der Formel: $ZV = \pi r^2 h$, Kern als Kugel nach:

$KV = \frac{4}{3}\pi r^3$ berechnet). Ich muß aber bemerken, daß die Zahlen auch von solchen Zellen genommen wurden, welche kurz vor der Teilung standen und bereits beträchtlich größer waren als ihre ruhenden Schwesterzellen. Im Verhältnis ändert das aber nichts, da vor der Teilung auch der Kern entsprechend größer wird. Jedenfalls wollen wir hier im Anschluß an die Zahlen schon feststellen, daß der Kern von *Microspora amoena* einen ganz bedeutenden Bruchteil des Zellvolumens einnimmt.

Der Kern von *Microspora* liegt in der Mitte der Zelle in einer Plasmamasse, welche sich bandförmig zwischen den beiden Längswänden der Zelle ausbreitet und in zarte Fäden ausgesponnen ist, welche den Kern im Zellraum befestigen. Der Kern zeigt sich meist in rechteckiger Gestalt. Daneben beobachtete ich aber auch oft eine etwas zartere Form mit linsenförmigem Zellkern. Die Längsachse des Kerns fällt mit der Querachse der Zelle zusammen.

Textfig. 3.



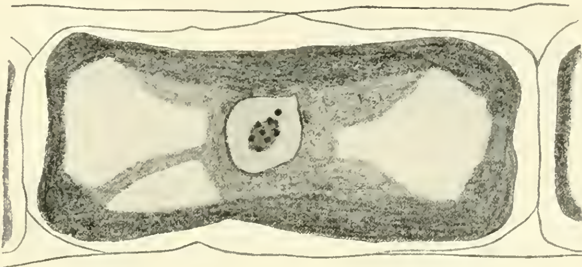
Microspora amoena. Kern und Zelle kurz vor der Teilung. Vergr. 1532.

Der Kern ist umgeben von einer ziemlich derben Membran. In seinem Innern findet sich ein im Leben stark lichtbrechender, im fixierten Zustand energisch Farbstoffe aufnehmender Nucleolus von relativ bedeutender Größe. Auf einen im Durchschnitt 7,3 μ langen Kern kam ein Nucleolus von 2,3 μ Durchmesser. Das Netzwerk des Kerns besteht aus einem Geflecht sehr zarter Fäden, in deren Knotenpunkten Chromatinkörnchen liegen von nicht konstanter Größe, aber scharf umrissener Form (Fig. 3).

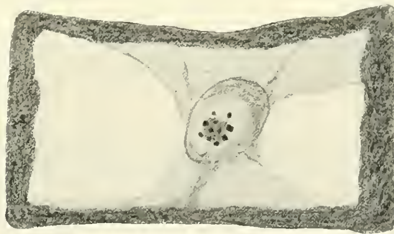
Vor der Teilung nimmt der Kern bedeutend an Größe zu und wird kugelrund. Noch schärfer als vorher heben sich die Chromatinkörnchen von dem zarten Netzwerk ab. Die einzelnen Körner sind bedeutend größer als vorher, dafür weniger zahlreich. Daraus schließe ich, daß von den kleineren Körnchen sich jeweils einige zusammenlegen und ein größeres bilden. Da ich nie einen Kernfaden beobachten konnte, werde ich nicht fehlgehen, wenn ich annehme, daß die Chromosomen direkt durch Verschmelzung von einzelnen Chromatinkörnchen gebildet werden. Diese Chromosomen in Körnerform wandern nach der Mitte der Zelle auf den Nucleolus zu. Eines nach dem andern dringt vermutlich in den Nucleolus ein, sodaß nach diesem Prozeß der Nucleolus intensiv gefärbt, das Netz-

werk des Kerns dagegen nur noch wie ein heller Hof um den Nucleolus erscheint (Fig. 4 und 5). Nach Analogie mit andern Objekten muß ich annehmen, daß die Chromosomen den Nucleolus wieder verlassen, nachdem sie Substanzen, vermutlich Chromatin, aus ihm aufgenommen haben. Tatsächlich zeigt auch der Nucleolus nicht mehr seine frühere Färbbarkeit, sieht vielmehr aus wie ein mit Flüssigkeit angefülltes Bläschen. Was dann aus ihm wird, weiß ich nicht anzugeben. Ich habe ihn einmal

Textfig. 4.



Textfig. 5.



Microspora amoena. Die Chromosomen ziehen sich auf den Nucleolus zurück. Vergr. 1532.

am Rande des Kerns beobachtet, schon halb ins Zellplasma hinausragend (Fig. 6), sodaß die Vermutung nahe liegt, er würde ausgestoßen. Anderseits könnte man ihn in Zusammenhang bringen mit der Spindelbildung. Denn diese tritt gerade dann auf, wenn der Nucleolus verschwindet.

Um diese Zeit beginnt die Kernwand dünner zu werden. Sie löst sich aber vorerst nur an den Polen auf und bleibt zu beiden Seiten noch deutlich erhalten. Dann erscheint die Kernspindel, die in der Mehrzahl der Fälle nur sehr schwer zu sehen ist (Fig. 7 und 8). Alle diese Stadien verlaufen überhaupt sehr rasch. Denn von den vielen Hunderten von Kernteilungen, die ich bei *Microspora* sah, fand ich kaum 10 Spindelstadien,

sodaß auch die Frage nach der Herkunft der Spindel unentschieden bleiben muß.

Die Chromosomen werden in der Äquatorialebene geteilt. Ob Längs- oder Querspaltung erfolgt, ist hier gleichgültig. Denn die Chromosomen haben nicht Stäbchenform, sondern sind würfelförmige, kleine, meist isodiametrische Klötzchen. Ich zählte deren 8—10. Keineswegs sind es mehr als 12.

Textfig. 6.

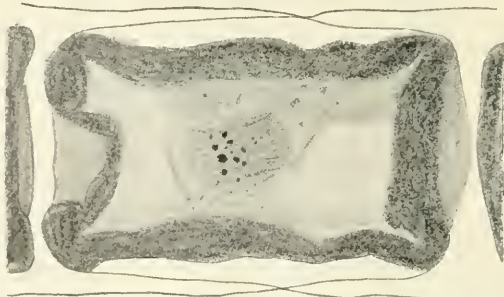


Microspora amoena. Äquatorialplattenstadium. An der Peripherie des Kerns ein nucleolusartiger Körper. Vergr. 1532.

Zur Zeit des Auseinanderweichens der Chromosomen ist die Kernspindel am schönsten zu sehen (Fig. 8). Sie ist tonnenförmig. Die seitlichen Begrenzungsfasern sind sehr stark ausgebildet; vielleicht sind das sogar noch die alten Membranreste. Die Bilder erinnerten mich immer an den »Verbindungsschlauch«, den Strasburger 1888 für *Spirogyra* beschrieb.

Die Chromosomen verklumpen in der Telophase; zunächst nur einzelne, dann diese wieder zu größeren Körnern (Fig. 9, 10, 11), sodaß ich

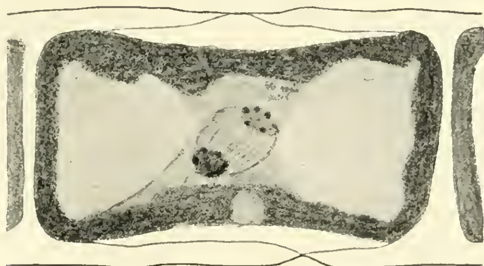
Textfig. 7.



Microspora amoena. Spindelstadium. Chromosomen kurz nach der Teilung in der Äquatorialplatte. Vergr. 1532.

ursprünglich geneigt war, anzunehmen, der Nucleolus verdanke diesem Prozeß seine Entstehung. Da jedoch die Chromosomen sicher aus dem Netzwerk des Kerns stammten, so war es unwahrscheinlich, daß aus ihnen der Nucleolus hervorgehen sollte. Der Nucleolus erscheint bereits auf einem sehr frühen Stadium, wenn die Kernwand erst als äußerst feines,

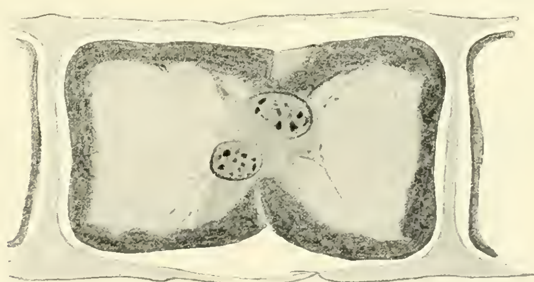
Textfig. 8.



Microspora amoena. Spindelstadium. Beachtenswert ist die Richtung der Kernspindel. Vergr. 1532.

eben sichtbares Häutchen angelegt wird. Niemals sah ich einen Nucleolus auftreten, so lange noch mehrere Chromosomenpäckchen da waren. Ich

Textfig. 9.



Microspora amoena. Wiederherstellung der Tochterkerne. Die Kernmembran erscheint. Erste Anfänge der Zellwandbildung. Vergr. 1532.

kann mir das alles nur so erklären, daß die Chromosomen verklumpen, um an den jungen Nucleolus, den man in dem stark gefärbten Chromosomenhaufen nicht sehen kann, ihr Chromatin abzugeben und nachher sich wieder auflösen in einzelne Körnchen, die Chromatinkörnchen des Netzwerks. Sobald der Nucleolus als solcher in Erscheinung tritt, ist er bereits kräftig färbbar und von einem deutlichen hellen Hof umgeben. Der Außenkern unterscheidet sich anfangs kaum von

Textfig. 10.

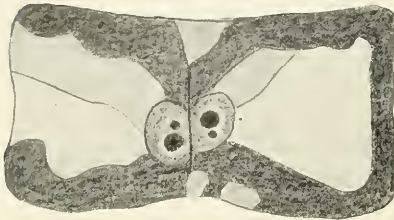


Microspora amoena. Kern in der Telophase. Die Chromosomen verklumpen zu größeren Körnern. Kernmembran ist bereits ausgebildet. Vergr. 1532.

dem umgebenden Zellplasma. Die Chromatinkörnchen sind aber deutlich zu sehen, speichern allerdings nicht in dem Maße Farbstoffe, wie in fertigem Zustand. Das alles spricht für meine Annahme, daß die Chromosomen von ihrem Farbstoff an den Nucleolus abgeben.

Was aus der Kernmembran während der Teilung wird, entzieht sich meiner Beobachtung. Zur Zeit, da die Kernspindel völlig ausgebildet ist und die Chromosomen bereits in zwei Gruppen gespalten sind, scheint sie an den Seiten noch völlig erhalten zu sein. Der Verlauf der Teilung geht aber so rasch, daß mir Zwischenstadien nicht zu Gesicht kamen. Jedenfalls erscheint die neue Membran zuerst an den einander abgewendeten Seiten der Tochterkerne (Fig. 9). Nach innen zu sind die Tochterkerne noch lange unbegrenzt. Da sie von einer sehr dichten Cytoplasmamasse umgeben sind, liegt der Schluß nahe, daß die Kerne auf Kosten dieser Plasmamasse wachsen. Denn die Größenzunahme der Kerne findet jetzt sehr rasch statt. Dagegen weichen sie nicht auseinander. Sie liegen vielmehr sehr eng aneinandergepreßt, oft so eng, daß sie sich gegenseitig abplatten und ausbuchten. Selbst wenn die Zelle bereits vollständig geteilt ist, liegen die beiden Kerne noch ganz eng zusammen, nur getrennt durch die Zellwand (Fig. 10, 11, 12). Dann beginnen sie ganz langsam auseinanderzurücken (Fig. 10, 13) und die Mitte der zugehörigen Zelle einzunehmen.

Textfig. 11.



Textfig. 12.

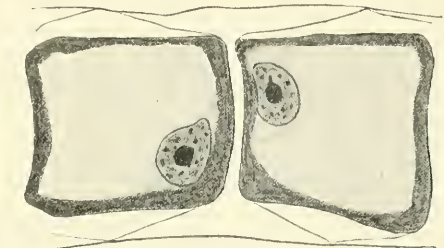


Microspora amoena. Nach der Teilung. Die Tochterkerne liegen dicht zusammen. Sie platten sich gegenseitig ab und sind nur getrennt durch die anfangs sehr dünne Zellscheidewand. Hier hat man den Eindruck eines amitotisch geteilten Kerns. Vergr. 1532.

Sehr merkwürdig für *Microspora* ist die Stellung der jungen Tochterkerne zu einander. In den allermeisten Fällen liegen sie, wie die Fig. 13 zeigt, und wie es auch schon Wille beschrieb, nicht nebeneinander, sondern schräg übereinander. Das kommt daher, daß die Kernspindel nicht in der Richtung der Längsachse der Zelle ausgebildet wird, sondern ähnlich wie bei gewissen Zellen der Characeen, schräg zur Längs-

richtung. Nur einmal sah ich eine Spindel ganz in der Richtung der Längsachse der Zelle, dagegen nie parallel der Querachse. Wohl aber wird die Äquatorialplatte oft so angelegt, daß die Spindel in der Richtung der kürzesten Zellachse verlaufen müßte. Aber das ist nur eine vorübergehende Lage. Denn gleich darauf findet eine Drehung der ganzen Kernteilungsfigur statt, sodaß die Spindel zur Zeit ihrer Ausbildung schon wieder in der Richtung einer Diagonale der Zelle verläuft. Die Tochterkerne rutschen ganz allmählich aneinander vorbei, bis jeder der Mitte der neugebildeten Zellwand anliegt (Fig. 11, 12). Oder aber sie bleiben in der schrägen Lage in der Zelle und rücken so auseinander. Das ist sogar der häufigere Fall (Fig. 13).

Textfig. 13.



Microspora amoena. Die Zellscheidewand ist bereits gut ausgebildet. Die Kerne liegen immer noch dicht an der Zellscheidewand. Vergr. 1510.

Die schräg übereinander liegenden Tochterkerne sind sehr charakteristisch für *Microspora.* Die Tatsache, daß sie kurz nach der Teilung lange Zeit so eng aneinander gepreßt sind und die eigentliche Teilung sehr rasch vor sich geht, so daß man Spindel- und Kernplattenstadien schon suchen muß, während frisch geteilte Kerne sehr häufig sind, gab wohl Wille Grund zur Annahme einer Amitose bei *Microspora.* Ich glaube nun aber gezeigt zu haben, daß von einer Amitose unter normalen Verhältnissen bei *Microspora* nicht die Rede sein kann.

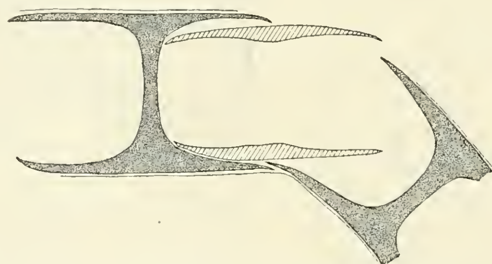
Frisch geteilte Kerne von *Microspora* findet man zu allen Tages- und Nachtzeiten. Spindel und Kernplattenstadien dagegen wird man mit dem meisten Erfolg früh am Morgen suchen. Die Ausbildung der Tochterkerne geht dann so langsam vor sich — im Gegensatz zur eigentlichen Teilung —, daß der endgültige Ruhezustand erst nach Verlauf von etwa 15—20 Stunden erreicht ist. Die Kernteilung verläuft also, was den Ursprung der Chromosomen und die sonstigen charakteristischen Bilder betrifft, ganz wie bei höheren Pflanzen.

Die Zellteilung geschieht succedan. Der Bau der Zellwand ist schon lange bekannt durch die Untersuchungen von Bertold (86), Wille (87) und andrer. Bei Behandlung der Fäden von *Microspora* mit 20% Chromsäure kann man die Membran sehr schön in ihre einzelnen H förmigen Stücke zerlegen; oder man läßt die ganze Zelle in Chloral-

hydrat oder Kalilauge aufquellen, um den Bau ihrer Membran sichtbar zu machen. Nach K. Meyer (13) wird die Struktur der Membran auch sehr schön sichtbar bei der Verschleimung der Membran anläßlich der Zoosporenbildung.

Die I förmigen Stücke berühren sich mit ihren Spitzen, greifen sogar ein wenig übereinander. Sie werden zusammengehalten durch ein sehr feines, aber äußerst widerstandsfähiges Häutchen, das auf ihrer Außenseite ununterbrochen über den ganzen Zellfaden verläuft. Es färbt sich nicht mit den gewöhnlichen Membranfarbstoffen, konnte aber auch bei vorsichtiger Behandlung der Zellen mit Schwefelsäure nicht als solches erhalten werden wie etwa eine Cuticula. Dagegen kann man es sichtbar machen, wenn man die Fäden mit Chromsäure behandelt. Durch die ent-

Textfig. 14.



Microspora amoena. Bau der Zellmembran. (Nach Behandlung der Zelle mit 50% Chromsäure.)

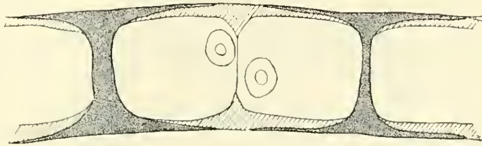
stehenden Druckdifferenzen werden die Fäden in Stücke zerrissen. Nicht selten hängen dann zwei Spitzen der I Stücke einer Zelle zusammen eben an diesem feinen Häutchen auf ihrer Außenseite (Fig. 14). Auch im Leben tritt es bisweilen in Erscheinung als heller Streifen auf der Außenseite der Membran. Doch ist dort schwer zu sagen, ob es nicht eine optische Erscheinung ist.

Dieses Häutchen allein aber wäre nicht imstande, die Membranstücke zusammenzuhalten. Dazu dienen noch andre Membranteile, welche so den I Stücken nach innen angelagert sind, daß ihre dickere, mittlere Partie unter den zugespitzten Enden der I Stücke liegt. K. Meyer (13) nennt diesen Membranteil »Zellulosecylinder«. Da er bei der Zellteilung, wie wir gleich sehen werden, eine bedeutende Rolle spielt, gab ihm Wille den Namen »Verlängerungsschicht«. Bei Behandlung mit Chromsäure oder bei Druckveränderungen reißt die Membran an der Stelle, wo die älteren Stücke, die äußeren, übereinandergreifen. Das Auseinanderweichen geschieht sogar mit ziemlicher Kraft, sodaß man annehmen muß,

daß die inneren Membranteile einen großen Druck auf die äußeren ausüben, d. h. nur passiv, indem sie selbst von dem Protoplasten angepreßt werden.

Diese Einlage auf der Innenseite der **I** Stücke, die »Verlängerungsschicht«, ist es, welche die Zelle bei der Teilung durchschnürt. Annähernd in ihrer Mitte bildet sie (im Längsschnitt gesehen) einen zuerst sehr kleinen, zarten Zapfen nach innen, der natürlich in Wirklichkeit eine ringförmige

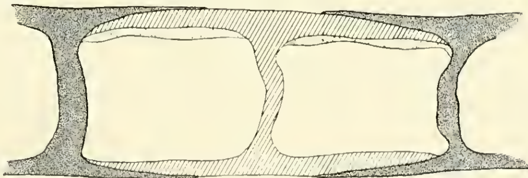
Textfig. 15.



Microspora amoena. Zellteilung. Bildung der Querwand von dem inneren Membranstück aus.

Leiste ist (Fig. 15). Diese Leiste dringt von allen Seiten als ganz dünnes Häutchen nach innen vor, schiebt sich zwischen die noch zusammenliegenden Tochterkerne und schnürt die Zelle durch (Fig. 10, 11, 12, 15). Erst mit fortschreitender Entwicklung der Tochterkerne nimmt die Zellscheidewand an Dicke zu. Das ist vielleicht der Grund, weshalb die Kerne so

Textfig. 16.



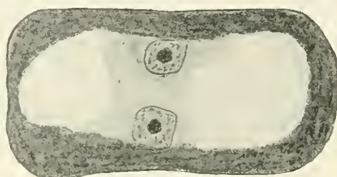
Microspora amoena.

lange zusammenbleiben. Auf Beziehungen zwischen Kern- und Zellwandbildung wurde ja schon oft aufmerksam gemacht. Hier handelt es sich um eine sehr derbe Membran. Da scheinen mir diese Beziehungen besonders in die Augen zu springen.

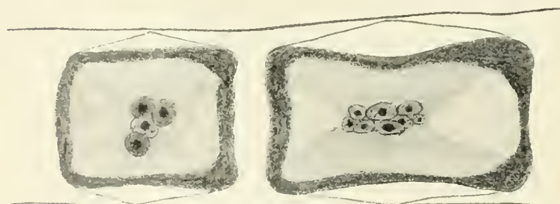
Sobald die Zelle ganz durchschnürt ist, nimmt die Innenschicht der Membran (welche die Zellscheidewand gebildet hat) an Dicke zu und übt einen Druck aus auf das alte, äußere **I** förmige Stück der Membran. Durch diesen Druck reißen die beiden übereinandergreifenden Enden auseinander — vermutlich dadurch, daß das äußere Schutzhäutchen springt

— und gleiten dann ganz allmählich auf der Rückseite des nunmehr neu gebildeten ⌶ förmigen Stückes auseinander. In dem Maße, wie die äußeren Teile auseinanderweichen, wird zwischen ihnen Kittsubstanz abgeschieden, welche das Ganze zusammenhält. Man kann diese Kittsubstanz sichtbar machen durch Färbung mit Kongorot in alkalischer Lösung. Die ältesten Membranteile (in der Fig. 16 ganz schwarz gehalten) färben sich nur schwach rosa. Etwas intensiver die neu gebildeten ⌶ Stücke (schraffiert). Das Zwischenband dagegen, das die auseinanderweichenden Membranstücke

Textfig. 17.



Textfig. 18. Textfig. 19.



Microspora amoena. Zellen im Begriff Zoosporen zu bilden. 2, 4 und 8 Kerne in einer centralen Plasmaanhäufung.

zusammenhält, ist intensiver rot gefärbt. (In der Figur durch die beiden Begrenzungslinien angedeutet.) Seinem Verhalten auch andern Reagenzien wie Chlorzinkjod und Schwefelsäure + Jod gegenüber, sowie wegen seiner Löslichkeit in Kupferoxydammoniak, könnte es aus Zellulose bestehen. Die übrigen Membranteile waren mit obigen Reagenzien ebenfalls ein wenig färbbar (Chlorzinkjod intensiv), zeigten aber eine bedeutende Resistenz gegenüber Kupferoxydammoniak.

Sehr merkwürdig waren einzelne Zellen, die mehr als einen Kern hatten. Ich sah solche mit 2, 4, sogar mit 8 Kernen. Wie ich aus der Schrift von K. Meyer (13) erfahre, handelt es sich hier um den Beginn der Zoosporenbildung. Die Zellen mit mehreren Kernen, die mir zu Gesicht kamen, stammten aus an Ort und Stelle fixiertem Material, an dem ich

natürlich den weiteren Verlauf der Zoosporenbildung nicht beobachten konnte.

Die Kerne liegen durchweg in der Mitte der Zelle, meist paarweise zusammen in einer dichten Plasmamasse, die aber keine Aufhängefäden erkennen läßt (Fig. 17, 18, 19). Solche mehrkernige Zellen finden sich stets in großer Anzahl in einem Faden. Die Zoosporenbildung geht auch hier von einem Punkte aus und pflanzt sich von dort über den ganzen Faden fort. K. Meyer (13) gibt Abbildungen von dem Verlauf der Zoosporenbildung und den Zoosporen selbst.

Zusammenfassung der eigenen Beobachtungen über Kernbau, Kern- und Zellteilung bei *Microspora amoena.*

Fassen wir kurz die Resultate unsrer Beobachtung zusammen, so können wir den Kern von *Microspora amoena* dem gleichnamigen Zellorgan höherer Pflanzen vollständig gleichstellen. Sein Chromatin ist in Form von gut sichtbaren Körnern auf das Netzwerk verteilt. Der Nucleolus ist stark färbbar und erreicht eine ziemliche Größe. Eine Membran grenzt den Kern gegen das Cytoplasma ab. Die Längsrichtung des Kerns fällt mit der Querachse der Zelle zusammen. Ein Plasmaband, das nach allen Seiten hin durch Fäden mit der Zellwand oder dem Chromatophor zusammenhängt, befestigt den Kern in der Zelle. Der Kern erreicht eine ganz bedeutende Größe. Seine Masse nimmt ungefähr den 45. Teil des Zellvolumens ein.

Was die Teilung betrifft, können wir die Angabe von Wille (87) dahin berichtigen, daß die Kernteilung der *Microspora* unter normalen Verhältnissen nicht amitotisch verläuft, sondern auf indirektem Wege. Die Karyokinese selbst stimmt im wesentlichen mit dem Modus überein, den wir für die indirekte Kernteilung von höheren Pflanzen kennen. Allerdings gehen bei *Microspora* die Chromosomen nicht in Form von Fäden aus dem Nuclein des Netzwerks hervor, sondern die »Chromatinkörnchen« des Kerns verschmelzen direkt zu homogenen, polyedrischen Chromosomen. Diese (etwa 8—10 an Zahl) ziehen sich vor ihrer endgültigen Ausbildung auf den Nucleolus zurück und geben bei der Wiederherstellung der Tochterkerne anscheinend wieder Substanzen an den jungen Nucleolus ab.

Die Richtung der Teilungsfigur wechselt bei einzelnen Zellen ganz bedeutend. In den allermeisten Fällen liegt die Spindel annähernd in der Richtung einer Diagonale der Zelle. Dadurch wird uns auch die charak-

teristische Lage frisch geteilter Kerne zu einander, wie sie Fig. 13 veranschaulicht, verständlich.

Die beiden Tochterkerne liegen nach der Teilung noch lange dicht beisammen. Sie weichen erst nach vollständiger Ausbildung der hier sehr derben Zellscheidewand auseinander. Die Zellscheidewand entsteht succedan von dem Membranteil aus, welcher zwischen je zwei I förmigen Stücken eingelagert ist.

Die einzelnen Stücke der Zellmembran werden durch ein sehr feines, ununterbrochen — nach Art einer Cuticula — über den ganzen Algenfaden verlaufendes Häutchen zusammengehalten.

Der bei der Zellteilung vorübergehend durch Sprengung des äußeren Häutchens gelöste Verband der einzelnen Membranstücke wird durch eine Kittsubstanz ersetzt, deren chemische Konstitution mir nicht genau bekannt ist.

Oedogonium.

Wie bei *Microspora* sind auch die Kerne andrer Glieder der Ulothrichaceenreihe »normal« gebaut.

Da ist vor allem *Oedogonium* noch genauer erforscht, das ich mit Oltmanns an dieser Stelle besprechen möchte. (Lotsy reißt *Oedogonium* aus der Gruppe der Ulothrichaceen heraus und stellt es wegen des Wimperkranzes der Schwärmer ganz isoliert mit *Derbesia* zusammen als »Stephanocontae« ins System.)

Der Zellkern von *Oedogonium* liegt der Zellwand an und ist infolgedessen manchmal einseitig abgeplattet. Er ist rings umgeben von Protoplasma. In jüngeren Zellen ist er häufig verdeckt von einem großen Pyrenoid. Seine Größe schwankt bei verschiedenen Species. Ich hatte Keimlinge aus Zoosporen, deren Zellen durchschnittlich 21 μ lang und 12 μ breit waren, mit Kernen von 4,2 μ Durchmesser, während die Kerne einer ausgewachsenen, sehr langzelligen Form (141 μ lang, 24 μ breit) 10 μ im Durchmesser hatten. Bei beiden war aber das Verhältnis von Zellvolumen zu Kernvolumen annähernd gleich: Für die erste Form $= \frac{1}{62}$, für die langzellige $\frac{1}{65}$. Die Kerne sind also verhältnismäßig sehr groß. In jungen Zellen nehmen sie oft die ganze Zellbreite ein.

Eine Kernmembran ist in den meisten Fällen sehr gut zu sehen. Das Gerüst des Kerns besteht aus distinkten Chromatinkörnchen, die bisweilen eine ganz beträchtliche Größe erreichen. Sie weisen deutlich und Verbindungsfäden untereinander auf. Bisweilen hatte ich den

Eindruck, als nähmen die Chromatinkörnchen eine konstante Anordnung in Spiralen oder konzentrischen Kreisen um den Nucleolus ein. Der Nucleolus ist hier nicht so groß wie bei *Spirogyra.* Im Mittel verhält sich die Kerngröße bei *Spirogyra* zur Nucleolusgröße wie 11 : 6, bei *Oedogonium*: 12,6 : 4,4.

Nach Strasburger (80) verläuft auch die Teilung ganz wie bei höheren Pflanzen. Die Chromosomen entstehen aus den Chromatinkörnchen des Netzwerks, indem diese sich zu Fasern oder Stäbchen, den Chromosomen zusammenlegen. Diese Fasern sehen nach van Wisselingh (08) wie perlschnurförmige Fäden aus, aus denen erst wieder die Chromosomen durch Verkürzung hervorgehen. van Wisselingh zählte deren 19. Die ungerade Zahl ist merkwürdig.

Die Spindel entsteht nach Strasburger aus dem Cytoplasma, während Mitzkewitsch (99) sich für einen intranuclearen Ursprung derselben ausspricht. Sie erreicht eine ziemliche Größe und zeigt scharf zugespitzte Pole. An ihr weichen die längsgespaltenen Chromosomen auseinander. Die ganze Teilungsfigur ist sehr in die Länge gezogen. Bei einigen Kernteilungsstadien, die ich bei *Oedogonium* sah, hatten die Chromosomen — entsprechend der ganzen Teilungsfigur — in der Anaphase die Form von ziemlich langen Fäden, von denen die äußeren im Sinne der Tonnenform der Spindel gebogen waren. Sie hatten nicht alle dieselbe Länge, wie das auch van Wisselingh hervorhebt. Vielmehr ragten die Enden einzelner Chromosomenfäden weit nach der Mitte zu vor. Diese waren gewöhnlich auch am meisten gebogen. In der Telophase lösen sich nach Strasburger die Chromosomenstäbchen wieder in einzelne Körner auf und werden so zu den Chromatinkörnern des Netzwerks. Die Tochterkerne wachsen auf Kosten des zwischen ihnen angesammelten Protoplasmas. Ob sie auch die Spindelfasern, wie Strasburger meint, »verschlucken«, das bezweifelt van Wisselingh. Er hält eine Auflösung der Spindelfasern im Cytoplasma für wahrscheinlicher.

Klebahn (92) macht auf Unterschiede im Bau der Kerne von Sexualzellen aufmerksam. Die männlichen und weiblichen Kerne von *Oedogonium* sind verschieden an Chromatingehalt und Größe, und zwar sind die männlichen Kerne kleiner, im Verhältnis zur Zelle aber größer, als die weiblichen und haben bedeutend mehr Chromatin. Dagegen fehlt ihnen der Nucleolus. Etwas ähnliches beschreibt auch Behrens (86) für die Geschlechtskerne bei *Fucus*, Klebahn (99) für *Sphaeroplea* usw.

Von dieser letzten Gruppe der Ulothrixreihe, den Ödogoniaceen, führt *Bulbochaete*, eine durch die Art der geschlechtlichen Fortpflanzung

(Zwergmännchen) nahe Verwandte von *Oedogonium* durch Ausbildung von Haaren und Verzweigung über zu den Chätophoraceen, deren Besprechung wir uns nun zuwenden wollen.

2. Chätophoraceen Draparnaldia.

Leider ist auch hier nur wenig Cytologisches bekannt. Neben *Coleochaete* finde ich nur noch etwas über den Zellkern von *Draparnaldia*, und das ist weiter nichts, als eine Abbildung des Kerns in Josts Pflanzenphysiologie (08). Dort ist eine *Draparnaldia*-Stammzelle als Schema für eine pflanzliche Zelle abgebildet. Der Kern ist der Figur nach normal gebaut und liegt dem äquatorialen Chlorophyllband an.

Gelegentlich einer Fußwanderung durch den Taunus fand ich *Draparnaldia* in Mengen in überschatteten Waldbächen. Das Material wurde mit ungefähr 2% Chromsäure fixiert und in Heidelberg gefärbt. Meist liegt der Kern so in der Zelle, daß er dem Beschauer die schmale Seite zukehrt und noch von dem ringförmigen Chromatophorenrest der Stammzelle verdeckt wird. Er liegt also nicht in der Mitte der Zelle, sondern peripher im Protoplasma und läßt eine deutlich körnige Struktur, eine Membran und einen Nucleolus erkennen. Er ist in keiner Weise von dem gewöhnlichen Bau eines pflanzlichen Zellkerns verschieden.

Den Kern in den mit Chlorophyll vollgepfropften Seitenzweigen sichtbar zu machen, war anfangs mit großen Schwierigkeiten verknüpft. Wohl bekam ich regelmäßig in den Zellen gefärbte Punkte, konnte aber nicht mit Bestimmtheit sagen, ob ich einen Kern oder etwa ein Pyrenoid vor mir hatte. Genau so bei *Stigeoclonium.* Ich wendete alle möglichen Färbemethoden an, um den Kern in den Seitenzweigen von *Draparnaldia* sichtbar zu machen, blieb aber schließlich bei den Hämatoxylinen. Waren die Pyrenoide schon älter und hatten Stärke gebildet, so konnte man sie gut von den Kernen unterscheiden, indem man den Stärkehof mit Chloraljod blau färbte. Anders dagegen die jungen Pyrenoide. Durch Kochen der Zellen oder noch besser durch Zusatz von Chloralhydrat (manchmal nach vorausgegangener Behandlung mit verdünntem Wasserstoffsuperoxyd) verquoll der ganze Zellinhalt, der Kern behielt seine Farbe in höherem Maße als die Pyrenoide und konnte dadurch sicher als solcher nachgewiesen werden. Ich stellte für ihn eine durchschnittliche Größe von 2,5 μ fest für eine Zellänge von 12,6 μ und eine Breite von 9 μ in den Seitenzweigen.

Coleochaete.

Diese Alge, die den Endpunkt der Chaetophorareihe bildet, hat historische Bedeutung. Allen (05) wies bei ihr zum erstenmal eine nach der

Befruchtung einsetzende Reduktionsteilung nach. OLTMANNS hatte noch 1898 nach Richtungskörpern bei der Öffnung des unbefruchteten Oogons gesucht.

Nach OLTMANNS scheint der ruhende Kern keine Besonderheiten gegenüber dem der höheren Pflanzen aufzuweisen. OLTMANNS beobachtete die Verschmelzung der Geschlechtskerne. ALLEN (05) verfolgte die auf die Verschmelzung einsetzende Teilung.

In Form von abwechselnd stärker und schwächer färbbaren Fäden gehen die Chromosomen aus den Chromatinkörnern des Netzwerks hervor. Schon sehr frühzeitig legen sich je zwei dieser Fäden zusammen und verschmelzen, zuerst an ihren Enden. Das ist die eigentliche Reduktion der Chromosomen. Die Fäden bilden eine typische Synapsis und zerfallen bald darauf in kurze Stäbchen oder Körner, die Chromosomen. In der nun folgenden Prophase werden die paarweise zusammenliegenden Chromosomen auch noch längs gespalten. Dadurch sehen sie wie viergeteilt aus. Sie verteilen sich über den ganzen Kernraum. Wir haben das Stadium der Diakinese. ALLEN zählte 32 Chromosomen. Diese werden kurz, dick und homogen und bilden die Kernplatte. Gleichzeitig wird die Spindel sichtbar, die nach ALLEN aus Kernsubstanz besteht und nicht aus Cytoplasma. Die Membran ist auf diesem Stadium nicht mehr zu sehen. Das Kernkörperchen tritt erst in der Telophase wieder auf.

Auf diese Teilung folgt sofort eine zweite, bei der die Chromosomen länger und schmäler sind als bei der ersten. ALLEN betrachtet mit Recht die erste Teilung als die heterotypische, die zweite als die homöotypische.

Coleochaete hat also bei der Befruchtung und Keimung noch ganz den Charakter von niederen, haploiden Pflanzen. Ein diploider Kern ist nur während der Ruhe, während des Zygotenzustandes vorhanden.

An die Resultate von ALLEN knüpft LOTSY (07) noch einige Bemerkungen. Er gibt die ALLENschen Befunde an *Coleochaete scutata* mit aller Vorsicht wieder, und zwar deswegen, weil OLTMANNS für *Coleochaete pulvinata* eine nach der ersten Kernteilung einsetzende Querteilung des ganzen Zellinhaltes beschrieb, der dann eine völlig unabhängige Weiterentwicklung der beiden Hälften — jede bildet vier Zellen (Zoosporen) — folgt. Daraus glaubt LOTSY schließen zu müssen, daß die erste Teilung bei *Coleochaete pulvinata* eine homöotypische ist und die Reduktion erst in der zweiten Teilung einsetzt. Es wäre ja schon denkbar, daß die zwei Species sich verschieden verhalten. Ohne Zweifel steht auch *Coleochaete pulvinata* durch Ausbildung von farblosen Spermatozoiden auf einer höheren Entwicklungsstufe als *Coleochaete scutata*. Da man sich immer wieder bemüht, an *Coleochaete* die höheren diploiden Pflanzen

anzuschließen, wäre es sehr erwünscht, wenn man wenigstens bei einem Vertreter der Coleochäten eine diploide Generation fände, die etwas länger bestünde, als nur im Ruhestadium.

3. Allgemeines.

Zusammenfassend kann man für die Familie der Ulothrichales, wie sie Oltmanns aufstellt, konstatieren, daß ihr Kern in morphologischer Hinsicht völlig dem der höheren Pflanzen gleichsteht. Darin sind sich alle Forscher einig. Wir hätten es hier mit einer auch in cytologischer Hinsicht hoch entwickelten Algenfamilie zu tun, sodaß der Schluß berechtigt erscheint, von ihnen die höheren Pflanzen abzuleiten. Der Sprung vom haploiden zum diploiden Charakter der Kerne in vegetativen Zellen wäre allerdings sehr groß. Darauf muß aber viel Wert gelegt werden. Vertreter aus dieser Algengruppe mit diploiden Kernen oder solche mit nur einigermaßen ausgeprägtem Generationswechsel sind uns aber nicht bekannt. Somit bleibt nach wie vor die Ableitung der höheren Pflanzen von den Ulothrichales, speziell den Coleochätaceen eine nur schwach gestützte Hypothese.

VI. Siphonocladiales.

Die bisher behandelten Familien der Grünalgen zeigten makroskopisch noch keinen ausgeprägten Habitus. Wohl aber läßt sich mikroskopisch eine fortschreitende Entwicklung erkennen in dem Sinne, wie wir die Algen hier besprochen haben. Dagegen finden wir bei den Siphonocladiales bereits Formen, die auch makroskopisch schon wohl charakterisiert sind. Man kann sie gleichsam als Übergang der bisher besprochenen »cellulären« Algen zu den »nicht cellulären«, den Siphonales, betrachten.

Diesen Übergang vermittelt die Vielkernigkeit. Wir haben es hier mit Organismen zu tun, welche zahlreiche Kerne in jeder Zelle aufweisen und dadurch eine ziemlich einheitliche Gruppe bilden, wenn auch sonst Vielkernigkeit ganz und gar nicht für verwandtschaftliche Beziehungen spricht. Ich habe dafür schon bei den Heteroconten Beispiele angeführt und möchte im Anschluß an die Ulothrichales hier erwähnen, daß auch bei Chroolepideen zwei und mehr Kerne beobachtet werden, die allerdings in Zellen auftreten, welche in der Jugend einkernig waren.

Cladophora.

Einer der wenigen Vertreter der Siphonocladiaceen im süßen Wasser ist *Cladophora*. Im Neckar bei Heidelberg kommt allenthalben eine auf

Steinen nahe der Oberfläche festgewachsene, wenig verzweigte *Cladophora* vor, welche im Habitus der *Cladophora fracta* sehr ähnlich ist. Daneben tritt im Frühjahr hauptsächlich die *Cladophora glomerata* in großen Mengen auf.

Trotz der dicken Zellmembran nehmen die Cladophoren ungemein begierig Farbstoffe auf, namentlich nach voraufgegangener Fixierung mit Chromsäure. Sie geben aber mit derselben Leichtigkeit den Farbstoff auch wieder ab. Hier erwies sich die Heidenhainsche Hämatoxylinfärbung nicht als die zweckmäßigste. Dagegen ist das Delafieldsche Hämatoxylin (nur $^1/_2$stündige Einwirkung!) ein geradezu ideales Kernfärbemittel für *Cladophora*. Die sonst so störenden zahlreichen Pyrenoide traten hierbei kaum in Erscheinung. Sie zeigten vielleicht eine schmutzig grüngelbe Farbe — bei richtiger Differenzierung — während die Kerne schön blauviolett gefärbt waren. Die Zellmembran war bisweilen violett angehaucht. Doch störte diese Farbe im Kanadabalsam nicht mehr.

Das Netzwerk des Kerns ist nach der Delafieldschen Färbung mit seltener Schärfe zu sehen. Es werden in ihm gleichmäßig große Körner wahrnehmbar, die scharf umschrieben sind und deutliche Querverbindungen aufweisen. Oft sah es aus, als lägen die Chromatinkörner in spiraliger oder konzentrischer Anordnung um den stark gefärbten Nucleolus. Letzterer erreichte relativ lange nicht die Größe, wie der Nucleolus von *Spirogyra*. Die Kernmembran tritt nicht besonders scharf hervor, wird aber gut sichtbar bei Behandlung der gefärbten Kerne mit Chloralhydrat.

Die Anzahl der Kerne in einer Zelle variiert natürlich mit der Größe der Zelle. Die von mir gemessenen Zellen der wenig verzweigten *Cladophora* waren im Mittel 267 μ lang und 49 μ breit. Auf eine Zelle kamen im Durchschnitt 20 Kerne. Ein Kern ist ungefähr 7,7 μ groß und nimmt etwa den 2150. Teil des Zellvolumens ein, die ganze Kernmasse also den 106. Teil. Selbstverständlich sind solche Zahlen mit Vorsicht aufzunehmen. Bleibt beim Messen der kleinen Kerne dem persönlichen Augenmaß schon sehr viel überlassen, so multipliziert sich ein etwa gemachter Fehler bei der langen Rechnerei noch.

Immerhin ist es interessant, einmal solche Verhältniszahlen aufzustellen und sie mit denen von einkernigen Zellen zu vergleichen. Dazu muß aber eine Menge Vergleichsmaterial vorliegen und solches mangelt mir, insonderheit von den polyenergiden Algen. Was ich an Messungen vorgenommen habe, will ich hier tabellarisch wiedergeben. $\left(\frac{Z\,V}{K\,V}\right.$ bedeutet

das Verhältnis von Zellvolumen zu Kernvolumen; ersteres nach der Formel $ZV = \pi r^2 h$, letzteres nach $KV = \frac{4}{3}\pi r^3$ berechnet.)

	$\frac{ZV}{KV}$
Spirogyra (lange Zellen mit schmalem Kern)	1/726
» (breite, kurze Zellen mit rundem Kern) . .	1/35
» (mittlere Zellgröße, breit linsenförmiger Kern)	1/83
Zygnema	1/211
Oedogonium	1/65
Microspora	1/45
Cladophora	1/106

Die Masse der zahlreichen Kerne von *Cladophora* ist also auch nicht größer als die Kernmasse eines einzigen Kerns in den Zellen monoenergider Algen.

Mir scheint, als stünde die Kerngröße mit der Dicke der Zellmembran in einem proportionalen Verhältnis. Die langzelligen Spirogyren haben eine sehr zarte Membran und wenig Kernmasse. Je breiter die Zelle, desto dicker ist die Membran, desto größer die Kernmasse. *Microspora* mit ihrer eigenartigen, derben Membran, hat einen Riesenkern, während *Zygnema*, der Zartheit des Objektes (der Membran) entsprechend, nur wenig Kernmasse aufweist. *Cladophora* hat eine sehr derbe Membran, im Verhältnis zu den andern aber wenig Kernmasse. Das kommt daher, daß hier nicht ein einziger Kern die Energie für die ganze Zellmembran zu liefern hat (vgl. Gerassimoff, Klebs [87]), wobei natürlich die Kernmasse in irgend einem Verhältnisse zur Entfernung von der Wand der hier ziemlich großen Zelle zunehmen müßte, sondern daß viele kleine Kerne über die ganze Zelle verteilt sind und jedem nur ein kleiner Bezirk der Membranbildung zufällt. Dabei ist natürlich vorausgesetzt, daß der Kern wirklich an der Membranbildung beteiligt ist. Klebs (87) führt diesen Nachweis gerade für eine Alge, nämlich für *Zygnema*, Gerassimoff in verschiedenen Arbeiten für *Spirogyra*.

Die Kernteilung verläuft bei *Cladophora* und überhaupt bei allen Siphonocladiaceen in sehr bezeichnender Weise und völlig unabhängig von der Teilung der Zelle. Bildung der Chromosomen aus dem Chromatin des Netzwerks — Němec (10) zählte mehr als 30 Chromosomen —, ihre Teilung und die Wiederherstellung der Tochterkerne stimmt mit dem überein, was wir von höheren Pflanzen wissen. Dasselbe gilt auch für die Kernspindel.

Dagegen spielt hier der Nucleolus eine eigenartige Rolle. STRASBURGER (80) hatte bereits einen Verbindungsfaden zwischen den auseinanderweichenden Kernhälften beobachtet. Er faßte ihn als das Verschmelzungsprodukt von Fasern auf, die zwischen den beiden Kernhälften ausgespannt waren. NĚMEC (10) wies aber nach, daß dieses Verbindungsstück nichts andres ist, als der Nucleolus, der sich in der Mitte eingeschnürt hat. Die Durchschnürung wird anfangs nicht vollständig durchgeführt. Zwischen den beiden mit den Chromosomen auseinanderweichenden Hälften des Nucleolus bleibt vielmehr ein Verbindungsfaden übrig. Die ganze Teilungsfigur wird dadurch hantelförmig.

Neben diesem Nucleolus sind aber noch andre Nucleolen da, welche sich bei der Teilung auflösen und später neu gebildet werden. Das sind die richtigen Nucleolen. NĚMEC nennt sie Nebennucleolen im Gegensatz zu dem sich teilenden Hauptnucleolus. Beide stehen nicht in genetischem Zusammenhang miteinander.

Den Hauptnucleolus könnte man ebensogut wie JOLLOS bei *Gymnodinium* als Karyosom auffassen, da er sich selbständig teilt. Richtiger ist jedoch ein Vergleich mit dem »Nucleolocentrosom«, das BLOCHMANN und KEUTEN (95) für *Euglena* beschrieben. Da aber bei *Cladophora* eine regelrechte Kernspindel angelegt wird, die bei *Euglena* fehlt, läßt sich darüber streiten, ob man dem Hauptnucleolus von *Cladophora* denselben kinetischen Einfluß auf die Kernteilung zuschreiben kann, wie dem »Nucleolocentrosom« bei *Euglena*.

Dieses Verbindungsstück zwischen den auseinanderweichenden Kernplattenhälften wurde übrigens schon sehr früh auch bei andern Siphonocladiaceen beobachtet. Schmitz beschreibt es bereits 1879 für *Valonia*. FAIRCHILD (94) beschäftigte sich dann näher mit der Kernteilung von *Valonia*. Er kommt zu dem überraschenden Resultat, daß bei der Teilung die Kernmembran nicht aufgelöst wird, sondern daß sie es ist, welche die Verbindung herstellt zwischen den sich trennenden Kernhälften. Außerdem beobachtete FAIRCHILD an den Polen der Spindel, außerhalb der Kernmembran, stark färbbare, lichtbrechende Punkte. Um sie war das Cytoplasma in radiären Streifen angeordnet. Er faßt die Punkte als Centrosomen mit Plasmastrahlung auf. An ruhenden Kernen war davon nichts zu sehen. Die Centrosomen traten nur während der Kernteilung in Erscheinung.

Mehr wissen wir nicht von Kernen nicht ooganer Siphonocladiaceen. Ich könnte höchstens erwähnen, daß SCHMITZ (80) und GOLENKIN (99) zahlreiche Kerne in den Zellen von *Acetabularia* sahen, BERTHOLD (80) dasselbe bei *Dasycladus*.

Sphaeroplea.

Etwas älteren Datums sind auch die Berichte über Kerne der Sphaeropleaceae, der einzigen oogamen Familie der Siphonocladiales.

Fresenius (51), Schmitz (82), Heinricher (83), Rauwenhoff (88) beobachteten zahlreiche Kerne in der Zelle der *Sphaeroplea annulina.* Heinricher zählte deren 40 in einer Zelle, je zwei in einem Plasmaring. Die Geschlechtsorgane sind dagegen einkernig. Rauwenhoff denkt sich den Eikern entstanden durch Verschmelzung von mehreren der vielen Kerne. Die Kerne der Spermatozoiden, so beschreibt es Klebahn (99), sind infolge der vielen aufeinanderfolgenden Teilungen sehr klein und chromatinarm geworden. 1 μ ist die Durchschnittsgröße für sie. Aus der durch die Befruchtung gebildeten Zygote entstehen nach Heinricher (83) vier Keimlinge, welche vermutlich durch eine heterotypische und eine homöotypische Teilung gebildet werden. Beobachtet wurde aber die Reduktionsteilung bis heute noch nicht.

Über den eigentlichen Bau der Kerne von *Sphaeroplea* berichtet Klebahn (99). Die sehr kleinen, 3,5—4,5 μ langen und 2—3 μ breiten Kerne haben eine Membran und ein Netzwerk mit Chromatinkörnchen, aus denen bei der Teilung die Chromosomen hervorgehen, während der Nucleolus nur in der Ruhe zu sehen ist. Die Kernteilung verfolgte Klebahn aber nicht weiter. Er nahm nur von den Stadien Notiz, die ihm gerade zu Gesicht kamen und die führten ihn zu der Überzeugung, daß die Teilung bei *Sphaeroplea* genau so verläuft, wie bei höheren Pflanzen.

Dagegen beschreibt Golenkin (99) für *Sphaeroplea* und auch andre Siphonocladiaceen Karyosomkerne. Nach ihm zerfällt der Nucleolus in die Chromosomen, während die Kernspindel aus Nucleussubstanz entsteht. Bei der Bildung der Tochterkerne verklumpen die Chromosomen zu dem Nucleolus. Doch unterbleibt dieser Prozeß nach Verlauf einer Anzahl von Teilungen. Die Chromosomen finden sich dann unverändert in den Tochterkernen wieder. Bei derartigen Kernen konnte aber Golenkin auch nie mehr Teilungsbilder sehen und schließt deshalb, daß sich diese Kerne durch die vielen Teilungen erschöpften und schließlich nicht mehr für richtige Mitosen ausreichten. Solche Kerne teilten sich nur noch amitotisch. Amitosen waren auch früher schon für *Valonia* und andre Siphonocladiaceen beschrieben und in demselben Sinne wie von Golenkin als senile Erscheinungen gedeutet worden.

Was *Sphaeroplea* anbetrifft, so stehen wir wieder vor demselben Rätsel wie bei *Spirogyra.* Die Untersuchung von Golenkin scheint recht sorgfältig zu sein. Andrerseits ist aber auch Klebahn als guter

Beobachter bekannt. Klebahn hat jedoch die Kernteilung von *Sphaeroplea* nur nebenbei beschrieben, während Golenkin sie genau verfolgte. Wenn also die Angaben von Golenkin sich bewahrheiteten, so würde *Sphaeroplea* im Kreise ihrer Verwandten eine ähnliche Ausnahmestellung einnehmen, wie *Spirogyra* unter den Konjugaten.

Allgemeines.

Oltmanns sucht die Siphonocladiales aus dem Ulothrichales abzuleiten. Die Vorgänge bei der Kernteilung der Siphonocladiales wäre dann aber als Rückbildung aufzufassen gegenüber dem ganz normalen Verlauf der Karyokinese bei den Ulothrichales.

Ich greife als charakteristischen Vertreter der Siphonocladiales *Cladophora* heraus. Diese Alge ist noch am besten cytologisch untersucht.

Wir erinnern uns der sonderbaren Rolle des Nucleolus, der sich selbständig teilt und seine Hälften den Tochterkernen einverleibt. Der Nucleolus spielt also eine wichtige Rolle bei der Teilung. Vielleicht könnte man ihm, analog dem, was wir durch Keuten von *Euglena* wissen, in Zusammenhang bringen mit dem Auseinanderweichen der Chromosomen. Der Hauptnucleolus, der während der Spirembildung exzentrisch gelagert war, rückt nach erfolgter Längsspaltung der Chromosomen in die Mitte der Teilungsfigur. Mit seinen polaren Enden berührt der bereits eingeschnürte Nucleolus die beiden auseinanderweichenden Chromosomenhälften. Es wäre nicht ausgeschlossen, daß der Nucleolus eigentlich die bewegende Kraft der Chromosomen ist. Die Chromosomen würden dann nur passiv den Spindelfasern entlang bewegt. Vielleicht haben wir hier ein Übergangsstadium vor uns, das die Rückbildung eines »normalen« Kerns zu einem Karyosomkern veranschaulicht. Der sich teilende Hauptnucleolus schiebt die Chromosomen vor sich her. Es ist leicht denkbar, daß die Chromosomen dabei mit dem vordringenden Nucleolus in Berührung kommen und sich nicht mehr von ihm zu trennen vermögen. Auf diese Weise würde der Ursprung der Chromosomen in den Nucleolus verlegt, der »normale« Kern reduziert zu einem Karyosomkern.

Sphaeroplea hat dann, wenn die Befunde von Golenkin sich bestätigen, einen solchen Karyosomkern. Sie aber auf Grund des gleichen Kernbaues mit *Spirogyra* zusammenzubringen, ist selbstverständlich ausgeschlossen. *Sphaeroplea* ist in bezug auf ihre Sexualität so weit vorgeschritten, daß *Spirogyra* ihr gegenüber als »nieder« bezeichnet werden muß.

Die Untersuchungen lassen für die Siphonocladiales viel zu wünschen übrig, sodaß man noch kein abschließendes Urteil geben kann, zumal

gerade neuere Forschungen fehlen. Jedenfalls haben die Siphonocladiales (von *Sphaeroplea* abgesehen) einen von dem gewöhnlichen Schema etwas abweichenden Modus der Kernteilung, charakterisiert durch die Persistenz und die Teilung des Nucleolus. Der ruhende Kern zeigt dagegen nichts Besonderes.

Die Übereinstimmung im Verlauf der Kernteilung rechtfertigt den Anschluß von *Valonia* an die Siphonocladiales.

VII. Siphonales.

Die Zahl der Kerne bei den Siphonales ist bekanntlich bedeutend größer als bei den Siphonocladiales. Wir haben hier auch Pflanzen, die nicht mehr in einzelne Zellen gegliedert sind, sondern monocelluläre, polyenergide Algen. Sonst zeigen aber die Kerne der Siphonocladiales und Siphonales sowohl in der Ruhe als auch während der Teilung keine nennenswerten Unterschiede.

Eine Menge älterer Autoren hat die Vielkernigkeit der Siphoneen nachgewiesen und zum Teil die Teilung der Kerne verfolgt. Vor allen Dingen Berthold (80), dann Schmitz (79) und Golenkin (99).

Vaucheria.

1911 erschien eine Arbeit von Kurssanow über die Zellkerne von *Vaucheria.* Das ist die einzige ausführliche Untersuchung über Bau und Teilung von Siphoneenkernen. An sie will ich mich hier ausschließlich halten.

Die Kerne der Siphoneen sind außerordentlich klein. Das erschwert ihr Studium. Schon in der Ruhe fielen Kurssanow an dem Kern von *Vaucheria* eine Menge Fäden auf, welche das Kernkörperchen gleichsam im Kern befestigten. Durch den Zug dieser Fäden wird der Nucleolus oft eckig. Ein regelrechtes Kerngerüst sah Kurssanow nur bei den größeren Kernen von *Vaucheria uncinata* und *terrestris.* Die Kerne der andern von ihm untersuchten Formen, deren Größe kaum über 3 μ hinausging, sahen meist körnig aus.

Schon bei den Siphonocladiales war die Kernteilung unabhängig von der Zellteilung. Hier kann die Kernteilung so ziemlich überall im Thallus stattfinden, mit Ausnahme natürlich an den ältesten Teilen. Gewöhnlich tritt sie in einiger Entfernung vom Vegetationspunkt auf und verbreitet sich von da aus wellenförmig weiter.

Vor der Teilung nimmt der Kern bedeutend an Größe zu und lockert sich auf. Sein Gerüst wird gröber, die Maschen des Netzes deutlicher,

die radialen Fäden zum Nucleolus verschwinden. Das Chromatingerüst bildet einen Knäuel, der Nucleolus wird unsichtbar. Er hat aber mit der Chromosomenbildung nichts zu tun. Die Chromosomen entstehen vielmehr — 10 an Zahl — aus dem Knäuel, den das Netzwerk bildete und haben Stäbchenform. Die Kernmembran löst sich erst auf, wenn die Spindel bereits angelegt ist. Nach ihrer Teilung in der Äquatorialebene rücken die Chromosomen in ringförmiger Anordnung auseinander. Diese ring- oder sternförmige Gruppierung der Chromosomen kennzeichnet alle Tochterkerne. Wie bei den Siphonocladiales sind die Tochterkerne noch lange durch Verbindungsfäden verbunden. Allerdings scheinen diese Verbindungsfäden hier nichts zu tun zu haben mit dem Nucleolus. Denn nach KURSSANOW verschwindet der Nucleolus während der Teilung. Die Chromosomen geben im weiteren Verlauf der Teilung ihre ringförmige Anordnung auf und wandern in Form von Stäbchen der Peripherie zu. Dort bilden sie Anastomosen untereinander und stellen so den netzförmigen Zustand des ruhenden Kerns wieder her.

Viel umstritten ist das Verhalten der Kerne bei der Oogonbildung. So viel hatten bereits die ersten Forscher (SCHMITZ [79] und BEHRENS [90]) gesehen, daß im fertigen Oogon nur ein Kern vorhanden ist, während vorher noch zahlreiche Kerne da waren. SCHMITZ und BEHRENS vermuteten daher, daß dieser eine Kern ein Verschmelzungsprodukt von vielen darstelle.

Dem gegenüber beschreibt OLTMANNS (95) ein Auswandern der überflüssigen Kerne aus dem Oogon in den Tragfaden zurück.

DAVIS (04) will aber auch der OLTMANNSschen Auffassung das Urteil sprechen. Er beobachtete weder ein Verschmelzen von Kernen, noch ein Auswandern aus dem reifenden Oogonium. Wohl aber hielt er es für wahrscheinlich, daß auch bei *Vaucheria* sich alle Kerne auflösen bis auf einen, der dann zum Eikern wird, analog dem Verhalten verwandter Pilze wie *Saprolegnia* oder einiger Peronosporales. Die Auflösung soll nach ihm so vonstatten gehen, daß zuerst die Kernwand schwindet, nachher das Kernplasma. Der Nucleolus hält sich am längsten. Schließlich liegen an der Peripherie des Oogons noch eine Menge von Chromatinkörnern, die letzten Reste der verschwindenden Kerne.

Dagegen brachte aber HEIDINGER (08), ein Schüler von OLTMANNS, in einer sorgfältigen und klaren Arbeit den Beweis, daß von einer Degeneration der überflüssigen Zellkerne bei der Entwicklung des Oogons von *Vaucheria* nicht die Rede sein kann. Die dunklen Punkte an der Peripherie des Oogons, die DAVIS für degenerierende Zellkerne hielt, sind weiter nichts als Körnchen, welche nicht nur im reifenden, sondern auch

im ganz jungen Oogonium ebenso gut vorkommen wie überall im Tragfaden. Sie haben allerdings nicht dieselbe Färbbarkeit wie die Kerne und konnten erst bei Überfärbung nach vorausgegangener intensiver Beizung deutlich sichtbar gemacht werden. Sie hatten bereits vor Davis Anlaß gegeben zu der Fabel von »Richtungskörpern«.

Entgegen Davis konnte Heidinger die Beobachtungen von Oltmanns in vollem Umfang bestätigen. Das passive Auswandern der Kerne verfolgte Heidinger nicht nur an fixiertem Material, sondern er sah auch im Leben die Tätigkeit des »Wanderplasmas«. Dieses »Wanderplasma« nimmt die überzähligen Kerne, die sich auf der Rückenseite des Oogons ansammeln, mit sich und befördert sie in den Oogonstiel, wo sie auch nach der Abgrenzung des Oogons durch eine Membran zu sehen sind. An dem Oogonkern geht die Tätigkeit des Wanderplasmas spurlos vorüber. Er zeichnet sich bereits in frühem Entwicklungszustand durch seine Größe aus, liegt an der Spitze des Oogons und ist wahrscheinlich durch besondere Fäden mit der Peripherie des Oogons unbeweglich verbunden. Er liegt außerdem in einer dichten Plasmamasse, die ebenfalls dazu beiträgt, ihn vor dem Mitgerissenwerden durch die Plasmaströmung zu retten.

Der Eikern weist in jugendlichem Zustand einen großen Nucleolus auf, dagegen ein nur wenig differenziertes Netzwerk. Mit fortschreitender Entwicklung gewinnt aber das Netzwerk dem verblassenden Nucleolus gegenüber an Deutlichkeit in der Ausbildung. Die von einem Pol des Eikerns ausgehende Plasmastrahlung deutet Heidinger als die Wirkung eines Centrosoms.

Eine Reduktionsteilung wurde für *Vaucheria* noch nicht beschrieben. Vermutlich findet sie bei der Keimung statt.

Allgemeines.

Im Ruhezustand zeigt der Kern der Siphonales nichts Besonderes. Ob die durch die Aufhängefäden bedingte eckige Form überall zu finden ist oder nur bei *Vaucheria*, ist nicht bekannt. Auch die Kernteilung verläuft im großen und ganzen nach dem üblichen Modus. Nur ist hier wieder dasselbe Verbindungsstück zwischen den auseinanderweichenden Chromosomenhälften, das wir bei den Siphonocladiales schon besprachen. Nach der Arbeit von Kurssanow scheint es hier aber nichts mit dem Nucleolus zu tun zu haben, sondern scheint seine Entstehung der Verschmelzung von Verbindungsfasern, die zwischen den beiden Tochterkernen zurückblieben, zu verdanken. Jedenfalls sind uns solche Teilungsbilder von Kernen unter den Algen nur aus diesen beiden Familien bekannt. Daher kann man die hantelförmige Gestalt der Kernteilungsfigur neben

der Vielkernigkeit als ein Charakteristikum der Siphonales und Siphonocladiales bezeichnen. Gleichzeitig rechtfertigt das gleiche Verhalten der Kerne den Zusammenschluß dieser beiden Gruppen im Sinne einer Verwandtschaft (Oltmanns [05] II, S. 15).

VIII. Charales.

Damit verlassen wir die eigentlichen Grünalgen und wollen noch einen Augenblick bei einer andern Pflanzenfamilie verweilen, die man im guten alten Sinne von »Algen« an dieser Stelle zu nennen pflegt, bei den Characeen.

Nur ganz wenige Forscher haben die Cytologie der Characeen einigermaßen erschöpfend behandelt. Man muß, um ein Gesamtbild von den Kernen dieser Familie zu bekommen, die Beobachtungen der einzelnen Forscher kombinieren.

Der Characeenkern ist nach Johow (81) scharf gegen das Plasma durch eine Membran abgegrenzt. Nur an älteren Kernen vermißte Johow die Membran. Das Netzwerk des Kerns besteht, wie das besonders Strasburger (07) hervorhebt, nicht etwa aus Waben, sondern aus Fäden. In den Knotenpunkten dieser Fäden liegt das Chromatin in Form von unregelmäßigen Körnern und Klümpchen. Sind diese Körner sehr fein, dann kann der Kern gelegentlich ganz homogen aussehen (Belajeff [94]). Jeder Kern besitzt mindestens einen Nucleolus. Dieser pflegt bei den weiblichen Geschlechtskernen (Debski [98], Goetz [99]) vacuolig zu sein.

Die Kernteilung verläuft nach dem gewöhnlichen Muster. Die Chromosomen gehen aus einem Spiremfaden hervor und sind zur Zeit ihrer typischen Ausbildung homogen. Sie werden längsgespalten. Die Kernspindel ist bipolar oder multipolar, je nach der Gestalt der Zelle. Diese bedingt auch die Richtung der Teilungsfigur in der Zelle. Da der Nucleolus während der Teilung in Form von Bläschen aus dem Kern ausgestoßen wird und Debski (97) das Vordringen der Spindel von zwei solchen polaren Bläschen aus beobachtete, vermutet er einen genetischen Zusammenhang der Spindel mit dem Nucleolus.

Die Zahl der Chromosomen ist natürlich für die ganze Familie nicht in einer Pauschalsumme anzugeben. Debski (97) zählte bei *Chara fragilis* 24, Goetz (99) dagegen nur 16—18. Auch Strasburger (07) zählte 18 bei *Chara fragilis* und bei *Chara crinita*. *Nitella syncarpa* dagegen hat nur 12.

Die von Debski beschriebenen polaren Ansammlungen, aus denen die Spindelfasern hervorgehen, haben, wie er ausdrücklich betont, mit

Centrosomen nichts zu tun. Solche wurden aber für Characeen des öfteren beschrieben. Schottländer (92) spricht von Attraktionssphären mit je zwei centrosomartigen Körnchen. Kaiser (96) sah an den Spindelpolen Centrosomen in Form von kleinen, nur wenig mehr als die Mikrosomen färbbaren Körnchen. Je zwei liegen beisammen und sind umgeben von einem hellen Hof. Während der Teilung soll eine deutliche Plasmastrahlung vorhanden sein. Debski konnte aber nichts von solcher Plasmastrahlung sehen. Die Körnchen, die Kaiser als Centrosomen anspricht, sind auch sonst überall mit demselben hellen Hof im Plasma zu finden und dürften nichts zu tun haben mit Centrosomen. Die wirkliche Existenz von Centrosomen bei Characeen harrt also noch der Bestätigung.

In älteren Zellen der Characeen, hauptsächlich solchen, die sich nicht mehr weiter teilen, z. B. die Internodialzellen und Hüllschläuche der Eizellen, finden keine Karyokinesen mehr statt, sondern nur noch Amitosen. Diese Amitosen erregten schon lange das besondre Interesse der Forscher und wurden bereits von Schmitz (79) beschrieben.

Bei der Amitose oder Fragmentation spielt nach den übereinstimmenden Resultaten der Forscher der Nucleolus eine hervorragende Rolle. Er streckt sich in die Länge, wird nacheinander sichel-, ring- und schraubenförmig und zerfällt schließlich ganz in einzelne Körner, die anfangs noch miteinander verbunden sind, nachher aber vollständig den Zusammenhang verlieren. Der Kern hat sich währenddessen auch in die Länge gestreckt, ist würfelförmig geworden und beginnt dann einzelne Lappen abzuteilen. Diese Lappen nehmen von den Zerfallsprodukten des Nucleolus in sich auf und bilden mit ihnen zusammen neue Kerne in der alten Zelle. Bisweilen findet eine neue Teilung statt, bevor die eben sich abschnürenden Fragmente selbständig geworden sind. Auf diese Weise kommen die wunderbarsten Formen von Zellkernen zustande.

Die Kernmembran bleibt bei der Amitose unangetastet. Sie wird nur durchgeschnürt. Johow (81) beobachtete oft eine äquatoriale Anordnung der aus dem Nucleolus bei der Amitose hervorgegangenen Körnchen und deutete solche Bilder als Übergänge zwischen Mitosen und Amitosen. Doch konnte bald darauf Zacharias (85) mikrochemisch nachweisen, daß im Nucleolus von *Chara* absolut kein Nuclein enthalten ist, daß also diese Körnchen mit Chromosomen auch nicht entfernt etwas zu tun haben können. Aber auch andre Gelehrte, so vor allem Debski (98), der sich am ausführlichsten mit Characeenkernen beschäftigte, teilen die Ansicht von Zacharias.

Da die Amitosen immer nur in solchen Zellen auftreten, die ihre Teilungsfähigkeit verloren haben, so lag es am nächsten, die Fragmentation

als die Äußerung einer Degeneration des Zellkerns, als eine senile Erscheinung zu betrachten. Nun muß man aber bedenken, daß die Internodialzellen der Characeen, die sich nicht mehr teilen, noch ganz beträchtlich in die Länge wachsen, oft ums tausendfache ihrer ursprünglichen Größe (Debski [94]). Das gab Strasburger (07) Anlaß, die Amitosen anders zu erklären. Sie stellen nach ihm »nicht einen senilen Vorgang dar, vielmehr ein Mittel, um gewisse Bestandteile der Kernsubstanz im Verhältnis zu der Massenzunahme des Cytoplasmas zu vermehren« (S. 40). »Die in Amitose eintretenden Kerne büßen ihre gestaltenden Funktionen in der Characeenpflanze ein und haben allem Anschein nach nur noch ernährungsphysiologischen Aufgaben obzuliegen« (S. 35).

Dementsprechend würde sich auch unsre Erklärung der Amitosen bei *Valonia* und andern Siphonocladiaceen ändern.

Da die Amitosen mit Sicherheit in allen nicht mehr teilungsfähigen, aber noch in die Länge wachsenden Zellen zu finden sind, bilden sie ein Charakteristikum der Characeen, das besonders im Rahmen der Algen in die Augen springt. Durch die Heidenhainsche Hämatoxylinfärbung, besonders nach vorausgegangener Fixierung mit Chromsäure, kann man sich leicht Präparate von amitotisch sich teilenden Kernen herstellen. Von meinen eigenen Beobachtungen habe ich dem schon Bekannten nichts hinzuzufügen.

Die Characeen ähneln ihrem ganzen Kernbau nach mehr den höheren Pflanzen als den Algen. Besonders die oft multipolare Anlage der Spindel lockt zu diesem Vergleich. Dagegen weisen auch unzweideutige Merkmale auf die Algen hin. Das ist vor allen Dingen der haploide Kern der Characeen. Weder bei der Sperma- noch bei der Eizellenbildung konnte Debski (97, 98) eine Reduktionsteilung nachweisen und Strasburger (07) gibt für parthenogenetisch entstandene Zygoten von *Chara crinita* die haploide Chromosomenzahl an. Somit müssen wir für die vegetative Characeenzelle einen haploiden Kern annehmen. Die Diploidgeneration ist wie bei den Grünalgen auf den Ruhezustand, auf die Zygote beschränkt. Ein Generationswechsel, wie wir ihn bei den Moosen haben, mit denen man die Characeen eventuell noch zusammenbringen könnte, ist hier sicher nicht vorhanden. Eine Reduktionsteilung wurde bei keiner Characee noch nachgewiesen. Es ist kaum daran zu zweifeln, daß sie bei der Keimung der Zygote einsetzt — ganz so wie bei den Grünalgen.

Wie wir aber bereits sahen, treten auch bei den Grünalgen schon Formen auf mit Kernen, die in nichts denen der höheren Pflanzen nachstehen. Wir dürfen deshalb nicht fehlgehen, wenn wir, wie das auch bis-

her geschehen ist, die Characeen näher zu den Algen stellen, als zu sonst einer Pflanzenfamilie. Freilich bringt auch die Cytologie kein Licht in das Dunkel, das ihre Abstammung umgibt.

IX. Phaeophyceae.

Von den beiden letzten großen Algenfamilien, den Phäophyceen und Rhodophyceen habe ich selbst keine Kerne gesehen. Beide Familien sind aber besonders in neurer Zeit gründlich cytologisch erforscht, sodaß ich an der Hand der wichtigsten Arbeiten einen Überblick über den Stand der Kernforschung bei diesen Familien zu geben versuchen werde.

Oltmanns gliedert die Phäophyceen in zwei Gruppen, die Phäosporeen und Cyclosporeen. Cytologisch können wir die beiden Gruppen aber zusammen besprechen.

a) Bau des Kerns.

Beim Phäophyceenkern finden wir ebenfalls alle die Elemente wieder, die wir von den Kernen der höheren Pflanzen kennen und in derselben Anordnung wie dort.

Der Kern stellt ein Gerüstwerk dar mit Chromatinkörnchen. Aus diesen Chromatinkörnchen gehen die Chromosomen hervor, und zwar ganz normal unter Spirembildung. Manche Forscher (Mottier [00], Williams [04] für *Dictyota*, Escoyez [09] für *Stypocaulon*) vermuteten, daß auch der Nucleolus irgend welchen Anteil an der Chromosomenbildung habe, vielleicht Versorgung mit Chromatin. Wahrscheinlicher ist aber, daß sich der Nucleolus während der Teilung auflöst. Da die Kernmembran sehr lange erhalten bleibt und bisweilen erst in der Telophase verschwinden soll, hat man den Nucleolus auch in Beziehung gebracht zu der Spindelbildung (Williams [04] *Dictyota*, Strasburger [97] *Fucus*). Die Frage nach der Entstehung der Spindel ist hier überhaupt sehr umstritten. Yamanouchi (09), der eine sehr eingehende Studie über *Fucus* veröffentlichte, will die Sache dahin entscheiden, daß man den Ursprung der Spindel im Cytoplasma, speziell dessen Kinoplasma, sucht. Nur deshalb, weil die Kernmembran so lange erhalten bleibt, könnte man auf den Gedanken kommen, die Spindel intranuclear entstehen zu lassen. Da die Phäophyceenkerne weitgehende Ähnlichkeiten haben mit den Kernen der höheren Pflanzen, so ist nach allem, was wir von dort über die Entstehung der Spindel wissen, anzunehmen, daß die Ansichten von Yamanouchi (09) und ebenso von Swingle (97) und Escoyez (09) richtig sind. Die abweichenden Angaben von Farmer, Williams (96, 98),

Williams (04) und Nienburg (10) sind aber leicht erklärlich durch die große Persistenz der Kernmembran.

Was wir über die Anzahl der Chromosomen wissen, das sei hier zusammengestellt.

Swingle (97) zählte bei *Stypocaulon scoparium* 20—40, während Escoyez (09) für dieselbe Pflanze nur 16 als haploide Chromosomenzahl feststellte.

Dictyota hat nach übereinstimmenden Angaben von Mottier (07) und Williams (04) 16 Chromosomen.

Dagegen widersprechen sich die Resultate bezüglich *Fucus* sehr. Farmer, Williams nahmen 10—12 als die haploide Zahl an für *Fucus vesiculosus* und *platycarpus*, sowie *Ascophyllum*. Strasburger (97) zählte 16 für *Fucus platycarpus*, während Yamanouchi (09) genau die doppelte Anzahl Chromosomen in der Haploidgeneration von *Fucus vesiculosus* fand.

Cystosira barbata hat nach Nienburg (10) 18—20 Chromosomen in der X-Generation, *Cutleria* nach Yamanouchi (09) 24.

Die Chromosomen gehen unter Bildung eines Fadens aus dem Netzwerk des Kerns hervor und verhalten sich auch im Verlauf der weiteren Teilung wie die gleichnamigen Gebilde höherer Pflanzen.

Nur bei der Reduktionsteilung in der Antheridiummutterzelle und im Oogonium von *Fucus* scheint die Bildung der Chromosomen nach Yamanouchi (09) in etwas abweichender Weise vor sich zu gehen. Dort legen sich nämlich im Stadium der Synapsis nicht einzelne Kernfäden parallel nebeneinander und verkürzen sich zu Doppelchromosomen, sondern die Kernfäden bilden eine Anzahl von Schlingen von der Kernwand aus ins Innere des Kerns. Die beiden Schenkel einer solchen Schlinge geben dann durch Verschmelzen ein Doppelchromosom. Darauf findet keine Längsspaltung der Doppelchromosomen statt, sondern diese bilden als Zweiergruppen die Kernplatte. Durch Auseinanderweichen und Verklumpen (mit darauffolgender Vacuolisation) der Chromosomen, deren jedes früher einem Arm einer Schlinge entsprach, werden die Tochterkerne gebildet. Die eigentliche Längsteilung der Chromosomen erfolgt somit erst in der zweiten, der homöotypischen Kernteilung.

Ich versage mir die Schilderung des Verlaufs der Kernteilung bei den Fucaceen, überhaupt bei den Phäophyceen, da er außer kleinen Abweichungen nicht verschieden ist von dem Verlauf der Kernteilung, wie wir ihn nun schon oft beschrieben haben.

Dagegen müssen wir im Anschluß an den Kern noch ein Zellorgan besprechen, das allem Anschein nach bei allen Phäophyceen vorkommt und bei der Teilung eine wichtige Rolle spielt, das Centrosom.

Das Centrosom liegt nach STRASBURGER (97), der es bei *Stypocaulon scoparium* während der ganzen Kernteilung verfolgte, der Kernmembran dicht an. Es hat die Gestalt eines kleinen Stäbchens und bildet den Mittelpunkt einer Plasmastrahlung. Die Plasmastrahlen verschmelzen im engeren Umkreis des Centrosoms zu einer homogenen Plasmamasse, die wie ein heller Hof um das Centrosom aussieht. STRASBURGER nannte diesen Hof die Astrosphäre.

SWINGLE (97) sah das Centrosom in den Zellen von *Stypocaulon* auch im Ruhezustand. Bei beginnender Kernteilung lagen zwei stäbchenförmige Centrosomen oft dicht neben einander. Daraus schloß SWINGLE, daß die Centrosomen durch Teilung aus einem einzigen hervorgingen. Er konnte aber ebensowenig wie später ESCOYEZ (09) die Teilung selbst sehen. ESCOYEZ bestreitet überhaupt die Centrosomennatur dieser Stäbchen, und zwar deshalb, weil ihre Zahl sehr wechseln kann. Er beobachtete nämlich des öfteren mehrere Stäbchen an Stelle eines einzigen. Er mißt ihnen keine weitere Bedeutung be als den Mikrosomen, die im übrigen Zellplasma zahlreich zu finden sind und nennt sie »corpuscules centraux«, weil sie im Gegensatz zu gewöhnlichen Mikrosomen im Mittelpunkt einer Plasmastrahlung liegen. Da aber auch STRASBURGER (92) und HUMPHREY (94) für die nahe verwandte *Sphacelaria* Centrosomen beschrieben mit Plasmastrahlung und Astrosphäre, so liegt der Schluß nahe, daß das Centrosom doch ein beständiger Begleiter der Phäosporeenkerne ist. ESCOYEZ selbst hatte ja eine Plasmastrahlung beobachtet und diese kennen wir fast ausschließlich im Zusammenhang mit Centrosomen. Zudem wurden Centrosomen auch für eine Menge Cyclosporeen beschrieben. Speziell über *Fucus* sind so viele neuere Arbeiten da, welche übereinstimmend ein Centrosom erwähnen, daß an dessen Vorhandensein nicht mehr zu zweifeln ist. Das Centrosom ist sogar nach YAMANOUCHI (09) ein dauernder Bestandteil der Zelle. Bei der Kernteilung spaltet sich zuerst das Centrosom der Länge nach. Ein Tochtercentrosom rückt dann der Kernmembran entlang etwa 180° von dem andern weg. Beide stehen im Mittelpunkt von Plasmastrahlungen und haben wahrscheinlich kinetischen Einfluß auf die Teilungsfigur, in dem Sinne, als die Spindel von ihnen aus in die Teilungsfigur vordringt.

Auch bei Dictyotaceen scheint das Centrosom ein dauernder Bestandteil der Zelle zu sein. Wie MOTTIER (98) sah, hat es hier die Gestalt eines gekrümmten Stäbchens, dessen konvexe Seite dem Kern zugewendet ist.

Ob die zwei Centrosomen, die bei der Teilung zu sehen sind, welche auf die Befruchtung der Eizelle folgt, durch Teilung aus einem einzigen zur Eizelle gehörigen Centrosom entstanden sind, oder ob eines von ihnen vom

Spermakern eingeschleppt wurde, das ist noch nicht entschieden. STRASBURGER (97) neigt zu der Ansicht, daß das eine Centrosom vom Spermakern herrührt, während FARMER, WILLIAMS (98) nur insofern das Centrosom mit dem Spermatozoid in Beziehung bringen, als sie glauben, daß vielleicht die Befruchtung den stimulus zu seiner Bildung geben könnte. STRASBURGER wird wohl recht behalten. Denn YAMANOUCHI (09) bringt einige Figuren, in denen die Teilung eines durch zwei Spermatozoiden befruchteten Eikerns abgebildet ist. Dort sah er deutlich drei Centrosomen. Mithin müssen wir annehmen, daß jedes Spermatozoid sein Centrosom mitbringt. YAMANOUCHI beobachtete das Auftreten des zweiten Centrosoms auch genau an der Stelle, wo das Spermatozoid durch die Membran in das Ei eindrang.

b) Verhalten der Kerne beim Sexualakt.

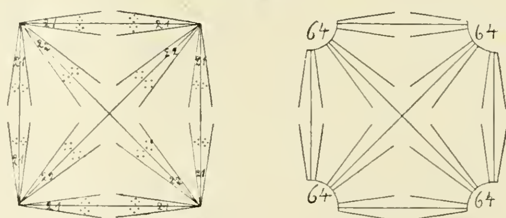
Wie überall, so besteht auch hier die Befruchtung in der Verschmelzung eines Spermakerns mit einem Eikern. Doch ist es speziell bei der Familie der Fucaceen gar keine Seltenheit, daß mehrere Spermakerne mit dem Eikern verschmelzen. Wo mehrere Spermatozoide die Befruchtung vollführen, ergibt sich natürlich eine viel größere Chromosomenmasse im Verschmelzungskern. Eine solche Zunahme der Chromosomenmasse hatte bereits STRASBURGER (97) beobachtet, aber falsch gedeutet. Er glaubte, der Eikern würde sich nach der Befruchtung teilen und die Teilprodukte sich wieder vereinigen. Auch OLTMANNS (89) hat etwas Derartiges beschrieben. Dem gegenüber konnte nun YAMANOUCHI das Eindringen mehrerer Spermatozoiden in das Ei beobachten und auch Abbildungen geben von der auf die Befruchtung folgenden Teilung. Was YAMANOUCHI darüber schreibt, gebe ich mit seinen eigenen Worten wieder: »In cases of polyspermy, when two sperms enter the egg nucleus, two centrosomes appear in the two spots, where the sperms entered, when three sperms have entered, there are three centrosomes. In cases of bispermy there are developed three poles, and in cases of trispermy (fig. 76) four poles (fig. 77) are present; for one pole has already appeared before the sperm enters. In the nucleolus with three poles, there are tripolar spindles, and 96 chromosomes become distributed upon the three spindles. The chromosomes split longitudinally at the metaphase, and at telophase two sets of 32 chromosomes meet at each of the three poles to form the three daughter nuclei.

In a quadripolar spindle (fig. 78) 128 chromosomes are distributed upon six spindles, and each of the four poles receives three sets of

daughter chromosomes, numbering 21, 21 and 22 (fig. 79 b), to form daughter nuclei (p. 185).«

Im ersten Falle, wo zwei Spermakerne ins Oogon eindringen, werden also 96 Chromosomen durch drei Spindeln (Halbspindeln) auf drei Tochterkerne verteilt. Das ist leicht zu verstehen. Natürlich muß man annehmen, daß die väterliche und mütterliche Erbsubstanz nach vorausgegangener Mischung gleichmäßig den drei Kernen zugeteilt wird. Kompliziert wird die Sache erst, wenn drei Spermakerne mit einem Eikern verschmelzen. Dann werden 128, bzw. $\frac{256}{2}$ Chromosomen auf vier Tochterkerne verteilt. Dabei treten nach Yamanouchi sechs Spindeln auf und nicht vier. Die notwendige Folge ist dann, daß diese sechs Spindeln nicht gleiche Wertigkeit haben. Vier von ihnen transportieren je zweimal 21 Chromosomen, die beiden andern je zweimal 22 nach den Polen. Schematisch kann man sich die Sache etwa so verbildlichen:

Textfig. 19 und 20.



Jeder der vier Tochterkerne bekommt seine Chromosomenmasse von drei Spindeln zugeführt und hat im ganzen 64 Chromosomen. Es fragt sich nun, ob das ganz bestimmte Spindeln sind, welche 22 Chromosomen befördern (in meinem Schema die Diagonalen). Eine Gesetzmäßigkeit muß ja da sein, weil sonst zu leicht die Chromosomen in ungleicher Zahl auf die Tochterkerne verteilt würden, etwa 65, 64, 64, 63. Eigentlich sollte man annehmen, die Natur würde den einfachsten Weg betreten und nur vier Halbspindeln ausbilden, die gleichwertig untereinander sind, d. h. gleich viele Chromosomen befördern. Yamanouchi sah aber sechs Spindeln. Folglich kann man sich die Sache nur auf obige Weise erklären. Ungelöst ist aber dann noch das Problem, wie die Chromosomen auf die Spindeln verteilt werden. Die Chromosomen, die auf einen Tochterkern kommen, müssen ja sowohl mütterliche als väterliche sein. Die Verteilung der Erbsubstanz geschieht nicht etwa willkürlich, sodaß die Tochterkerne nur quantitativ, nicht qualitativ übereinstimmten. Denn

Yamanouchi konnte kurz nach der Verschmelzung der Kerne männliche und weibliche Kernsegmente nicht mehr von einander unterscheiden, so gründlich waren sie vermischt.

Polyspermie scheint bei *Fucus* sehr häufig vorzukommen, sodaß es schon möglich ist, über die cytologischen Vorgänge dabei Näheres zu erfahren.

Der Eikern hat nach erfolgter Befruchtung 64 Chromosomen. Diese Zahl wird beibehalten durch das ganze vegetative Leben. Die Reduktionsteilung, wie sie oben geschildert wurde, findet bei *Fucus* erst statt bei der Bildung der Geschlechtsorgane. Auf die dabei unvermeidliche Tetradenteilung folgen noch eine Menge weiterer Teilungen in den Antheridien: Es entstehen zahlreiche (meist 64) Spermatozoiden. Dagegen folgt in allen Ooogonien der Fucaceen nur noch eine Teilung auf die Tetradenteilung, wir haben acht Kerne. Diese sind aber meist nicht alle befruchtungsfähig. Schon Oltmanns (89) hat darauf besonders sein Augenmerk gerichtet. Sieben Kerne degenerieren sehr häufig, nur einer harrt der Befruchtung. Es ist anzunehmen, daß auf früheren Entwicklungsstufen überall acht befruchtungsfähige Eier ausgebildet wurden. Anders kann man sich das Vorhandensein von acht Kernen, von denen nur vier durch die Reduktionsteilung entstehen, nicht erklären. Außerdem bilden die meisten Vertreter der Gattung *Fucus* wirklich noch acht Eier aus und beseitigen dadurch alle Zweifel. Im übrigen kann man aber in dieser Beziehung für die Familie der Fucaceen keine allgemein gültige Regel aufstellen. Gardner (10) hat sich kürzlich mit dem Schicksal der durch die Reduktionsteilung entstehenden Kerne beschäftigt und fand, daß die Natur hier innerhalb einer Familie verschiedene Typen ausgebildet hat. *Fucus evanescens* (als Vertreter von »*Fucus*«) bildet zu allen acht Kernen je eine Zelle aus. Wir haben im ganzen acht Oosphären (befruchtungsfähige Eier). *Ascophyllum nodosum* (Oltmanns) läßt vier Kerne degenerieren und hat nur vier Oosphären. Bei *Pelvetia canaliculata* (Oltmanns) und *Pelvetia fastigiata* gehen nur zwei Oosphären aus dem Oogon hervor. Die sechs überflüssigen Kerne werden ausgestoßen und degenerieren zwischen den beiden Oosphären. Noch weiter gehen *Hesperophycus Harveyanus* und *Pelvetiopsis limitata*, die nur zu einem Kern eine Oosphäre ausbilden. Die sieben andern Kerne werden von dem Oogonium als Miniaturzelle mit etwas Plasma abgeschnürt und gehen nach einiger Zeit zugrunde. Bei *Cystosira Osmundacea*, *Cystosira barbata* (Nienburg [10]) *Sargassum linifolium* (Nienburg [10]) und *Himanthalia lorea* (Oltmanns) werden sieben Kerne an der Peripherie der Oosphäre ausgestoßen. Auch hier ist nur ein Kern empfängnisfähig.

c) Generationswechsel.

Von der Bildung der Geschlechtsorgane bis zur Befruchtung ist die Pflanze haploid, sonst immer diploid. Das gilt für *Fucus*. Andre Cyclosporeen, die Dictyotaceen, haben dagegen zwei ungefähr gleichwertige Generationen, die in regelmäßigem Wechsel auf einander folgen. Das hat Hoyt (10) direkt durch Kulturversuche festgestellt. Die Tetrasporen bildende Generation hat diploide Kerne, die Geschlechtsorgane bildende haploide. Die Reduktion erfolgt bei der Bildung der Tetrasporen, und zwar bei der ersten Teilung der Tetrasporenmutterzelle.

Ob dagegen *Cutleria* und *Aglaozonia* Generationen ein und derselben Species darstellen oder Wachstumsformen sind ähnlich wie *Batrachospermum* und *Chantransia*, das ist heute noch nicht aufgeklärt, trotzdem Yamanouchi (09) nachwies, daß *Cutleria* die haploide, *Aglaozonia* die diploide Generation ist. *Culteria* wäre also der Gametophyt, *Aglaozonia* der Sporophyt. Die Reduktionsteilung setzt ein und wurde von Yamanouchi beschrieben bei der Bildung der Zoosporen auf *Aglaozonia*. Zweifellos stimmt diese Theorie von einem Generationswechsel in bezug auf die Cytologie. Aber damit sind die alten Beobachtungen von Kuckuck, Falkenberg, Sauvageau u. a. (Oltmanns I, 405), welche die Entstehung von Aglaozonien auf ganz jungen Cutlerien ohne Bildung von Geschlechtsorganen und auch andre Modifikationen beobachteten, noch nicht widerlegt. Es mehren sich überhaupt in neuerer Zeit die Beobachtungen, daß die beiden Generationen nicht nur bei *Cutleria* und *Aglaozonia*, sondern auch bei andern Algen, ich erwähne nur *Polysiphonia* — Rigg and Dalgity (12); *Griffithia* — Lewis (09) — nicht unbedingt alternieren müssen, daß nicht die eine Generation auf das Endstadium der andern folgt, sondern daß bisweilen Tetrasporen an Geschlechtspflanzen oder Geschlechtsorgane an Tetrasporenpflanzen auftreten. Bis jetzt wurde aber noch keiner dieser Fälle cytologisch untersucht. Es sind uns also nur Fälle bekannt, wo die Reduktionsteilung bei der Bildung von Fortpflanzungszellen, also am Ende einer Generation, auftritt. Damit ist natürlich nicht gesagt, daß sie nicht auch auf irgend einem Entwicklungsstadium im vegetativen Leben einsetzen könnte. Sollte diese Möglichkeit da sein, dann müßte sich unsre Vorstellung vom Generationswechsel wesentlich ändern (Davis [10]).

Daß die Geschlechtsorgane bei *Fucus* auf der diploiden Generation gebildet werden, klingt etwas befremdend. Das war auch der Grund, weshalb Lotsy (07), wahrscheinlich beeinflußt durch eine kurz zuvor erschienene Arbeit von Miss Simons (06), nicht glauben wollte, daß der

Thallus der Fucaceen eine 2 x Generation sei. Nach SIMONS (06) sollte nämlich der Oogonkern von *Sargassum* direkt, ohne Reduktionsteilung, zum Eikern werden. NIENBURG (10) konnte aber auch hier eine regelrechte Reduktionsteilung und die Entstehung von acht Kernen nachweisen, von denen sieben degenerierten. Nur fand das alles nicht innerhalb der Konzeptakeln statt, sondern erst außerhalb, wo Miss SIMONS wahrscheinlich nicht gesucht hatte.

d) Systematische Bedeutung des Kerns.

Der diploide Kern des Fucaceenthallus und die Reduktion bei der Bildung der Geschlechtsorgane erinnert sehr an höhere Pflanzen. Er bestätigt die Auffassung der Systematiker, *Fucus* als Endglied der Phäophyceen aufzufassen.

Durch den gut ausgeprägten Generationswechsel zeigen die Phäophyceen mehr Anklänge an Moose und Farne als an Algen.

Es gibt nur wenig Gruppen unter den Algen, die mit Phäophyceen Ähnlichkeiten im Bau des Zellkerns aufweisen. Für die Braunalgen ist das Centrosom mit seiner Plasmastrahlung als Zellorgan sehr charakteristisch. Centrosomen als Zellorgane haben wir — mit Sicherheit — nur noch bei den Diatomeen kennen gelernt. Das Vorhandensein eines Centrosoms scheint auf den ersten Blick auch Ähnlichkeiten zwischen den beiden Familien darzutun. Doch bezeichnet man in beiden Familien mit Centrosom nicht dasselbe. Den Diatomeen fehlt nämlich die für die Phäophyceen so charakteristische Plasmastrahlung. Man muß also annehmen, daß sich das Centrosom in diesen beiden Familien zu ganz verschiedenen Zeiten entwickelte. Die Diatomeen sind infolge ihres Kieselpanzers eine sehr stabile Gruppe, die bereits im Karbon in denselben Formen vorkommt wie heute. Bei ihnen blieb das Centrosom auf dem Stadium stehen, da es noch ausschließlich als Teilungsorgan wirkte, während es bei den Phäophyceen zu einem Organ wurde, das auch in der Ruhe einen energetischen Einfluß auf die Zelle hat. Das beweist die Plasmastrahlung.

Die Hauptgruppe der Braunalgen, die Fucaceen, sind fast ausschließlich diploid. Die Haploidgeneration ist, wie wir wissen, sehr reduziert. Dasselbe gilt für die Diatomeen. Aber da spricht gegen eine Verwandtschaft, daß wir in den Fucaceen die höchst entwickelten Phäophyceen vor uns haben, die nicht nur im vegetativen Aufbau, sondern vor allen Dingen in den hoch entwickelten Geschlechtsorganen himmelweit von den Diatomeen entfernt sind. Das Natürlichste wäre, die Diatomeen an niedrigstehende Phäophyceen anzuschließen, und sie etwa an den An-

fang der Phäosporeenreihe zu stellen. Ob hier aber cytologische Übereinstimmungen vorhanden sind, das ist kaum zu sagen, da wir über die Cytologie der Ectoparpeen — abgesehen von einer Erwähnung des Kerns von *Pleurocladia lacustris* bei KLEBAHN (95) und WILLE (95) — gar nichts wissen. Jedenfalls ist es sehr gewagt, die Diatomeen mit den Phäosporeen derart zusammenzubringen. Die Analogien, die zwischen beiden Familien gegeben sind durch die braune Farbe der Chromatophoren, durch den diploiden Kernbau und das Centrosom, geben uns aber das Recht, die beiden Gruppen etwas näher aneinanderzuschließen, als man das bisher getan hat. Jedenfalls ist es richtiger, die Diatomeen an die Phäophyceen anzulehnen, als sie mit den Konjugaten zusammenzubringen. Das haben wir oben schon besprochen. Freilich stößt eine gemeinsame Ableitung der Phäophyceen und Bacillariaceen, etwa aus den Chrysomonaden, besonders bei den Kieselalgen auf große Schwierigkeiten.

X. Rhodophyceen.

a) Bau des Kerns.

Im Bau ihrer Kerne zeigen die Vertreter dieser formenreichen Familie am wenigsten Einheitlichkeit von allen Algen. Ich halte es für das Zweckmäßigste, der Besprechung der Rhodophyceenkerne einen in tabellarischer Zusammenfassung gegebenen Überblick vorauszuschicken (s. Tabelle S. 71).

Einen richtig »normal« gebauten Kern mit Netzwerk und Chromatinkörnchen finden wir nur bei *Polysiphonia* und *Delesseria*. Meistens scheint das Netzwerk des Kerns sehr reduziert zu sein, wenn es nicht ganz fehlt. Bei *Antithamnion* soll es erst im Alter auftreten (SCHILLER [11]), während in der Jugend nur Chromatinkörner im Kern zu sehen sind, wie bei *Corallina* (DAVIS [98]) zeitlebens.

Typische Karyosomkerne, wie wir sie bei *Spirogyra* und *Sphaeroplea* kennen gelernt haben, werden für *Nemalion* und *Griffithsia* beschrieben.

Dem Bau des ruhenden Kerns entsprechend geht dann auch die Bildung der Chromosomen vor sich. Bei *Corallina*, *Polysiphonia* und *Delesseria* entstehen sie durch Zusammenlegen der im Netzwerk vorkommenden Chromatinkörner. Spirembildung wurde nur selten beobachtet. Offenbar kommt das nur bei der Reduktionsteilung und in männlichen Pflanzen von *Polysiphonia* vor.

In den Karyosomkernen pflegt der stark färbbare Nucleolus an Fäden im Kern aufgehängt zu sein. Gewöhnlich sind diese Fäden alles, was an Stelle eines Netzwerks zu sehen ist; der Kern hat das Aussehen eines

	Membran	Gerüst des Kerns	Nucleolus	Zahl der Chromosomen haploid	Chromosomen aus	Spindel aus	Spindelpole
Wolfe (04) *Nemalion*	—	Nicht ausgebildet	Karyosom	8	Nucleolus	Nucleolus und Aufhängefäden des Kerns	Centrosom mit hellem Hof. Zellorgan. Keine Plasmastrahlung.
Kurssanow (09) *Nemalion Helminthora*	—	Schwach ausgebildet	Karyosom	—	Nucleolus	—	—
Davis (98) *Corallina*	—	Nicht ausgebildet. Enthält aber Chromatin in Form von Klümpchen	normal	—	Chromatin des Kerns	Cytoplasma	Kein Centrosom. Centrosphäre. Nur während der Teilung
Yamanouchi (06) *Polysiphonia*	Cytoplasma	Netzwerk mit Chromatin	normal	20	Netzwerk	intranuclear	Centrosom und Centrosphäre. Nur während der Teilung. Keine Plasmastrahlung
Lewis (09) *Griffithsia*	Cytoplasma	Schwach ausgebildet	Karyosom	7	Nucleolus	intranuclear	Polkappen aus Plasma
Schiller (11) *Antithamnion*	Keine. Findet sich nur bei alten Kernen	Chromatinballen. Erst im Alter Netzwerk	normal. mehrere	—	Kern	—	—
Svedelius (11) *Delesseria*	—	Netzwerk mit Chromatinkörnchen	normal. Substanziell beteiligt an der Chromosomenbildung	20	Netzwerk	—	Centrosom nur ausnahmsweise. Keine Plasmastrahlung. Polare Plasmaansammlung

Bläschens. An den vom Nucleolus ausgehenden Fäden wandern die Chromosomen, die hier natürlich aus dem Nucleolus entstehen, in den Kernraum hinaus und machen dort ihre weitere Teilung durch. Der Chromosomenbildung bei *Nemalion* soll nach Wolfe (04) auch die Bildung eines Spiremfadens vorausgehen.

Aber nicht nur bei den Karyosomkernen, sondern auch bei »normal« gebauten Kernen der Florideen scheint der Nucleolus nach der jüngsten Arbeit von Svedelius eine nicht zu unterschätzende Rolle bei der Chromosomenbildung zu spielen. Denn Svedelius beobachtete das Einwandern der Chromosomen im Stadium der Synapsis in den Nucleolus. Merkwürdigerweise ist aber der Nucleolus vor und nach diesem Stadium farblos. Bei der Wiederherstellung der Tochterkerne wird dann nicht alle Chromosomensubstanz zur Bildung des Netzwerks verwendet, sondern ein kleiner Teil, eine Restsubstanz beteiligt sich in ähnlicher Weise am Aufbau des Nucleolus, wie ich es oben für *Microspora* beschrieb.

Viel umstritten ist auch die Frage nach der Herkunft der Kernspindel. Lewis und Yamanouchi sind für einen intranuclearen Ursprung. Desgleichen Wolfe. Dagegen soll sie nach Davis aus Cytoplasma entstehen, das sich während der Teilung an den Polen ansammelt.

Weitere Einzelheiten bei der Kernteilung übergehe ich. Das schon Gesagte mag genügen, um auf die Verschiedenheiten der bei Florideen vorkommenden Kerne hinzuweisen.

Nur das zuweilen beobachtete Centrosom verdient noch besondere Beachtung im Hinblick auf die im vorhergehenden Kapitel besprochenen Braunalgen.

Seine Existenz ist nicht für alle Florideen nachgewiesen. Wolfe (04) beobachtete bei *Nemalion* ein Centrosom mit hellem Hof aus hyalinem Plasma auch im Ruhezustand. Lewis (09) suchte bei *Griffithsia* vergeblich nach einem Centrosom sogar während der Kernteilung. Er konnte nur Polklappen aus Protoplasma finden. Die wurden auch von Svedelius (11) für *Delesseria* beschrieben. Doch soll dort ausnahmsweise auch ein Centrosom vorkommen, aber ohne Plasmastrahlung. Dagegen dürfte *Polysiphonia* wenigstens während der Teilung ein Centrosom besitzen, das aber beim Erscheinen der Centrosphäre, ohne Plasmastrahlung gezeigt zu haben, wieder verschwinden soll. Seltsamerweise fand jedoch Yamanouchi (06) bei der Teilung des befruchteten Eikerns, bei der die Centrosomen für gewöhnlich besonders gut in Erscheinung treten, weder ein Centrosom noch eine Centrosphäre.

Eine Centrosphäre ohne Centrosom und Plasmastrahlung beschrieb Davis (98) für *Corallina*. Sie trat aber nur während der Prophase der

Teilung auf, und zwar gleich in der Zweizahl. Die beiden Centrosphären entstanden unabhängig von einander aus Protoplasma, das sich in größeren Mengen an zwei Kernpolen angesammelt hatte. Nach vollendeter Kernteilung verwandelten sich die beiden Centrosphären wieder in Plasma zurück.

Allem Anschein nach spielen die Centrosomen bei den Rhodophyceen keine so bedeutende Rolle wie bei den Phäophyceen. Vor allen Dingen fehlt ihnen eine Plasmastrahlung. Außerdem sind die Centrosomen der Florideen sehr vergängliche Gebilde, die — mit einziger Ausnahme von *Nemalion* — bei jeder Teilung neu gebildet werden und nachher wieder verschwinden. Wenn irgendwo, so könnte man hier Zweifel an der Centrosomennatur solcher Gebilde äußern. In neuerer Zeit bestreitet auch Svedelius ihr Vorhandensein. Er sah zwar manchmal an den Spindelpolen stark färbbare Punkte, die man als Centrosomen ansprechen könnte. Sie waren aber ohne jeden Einfluß auf das umgebende Cytoplasma und hatten keine Bedeutung für die Spindel.

Dagegen scheinen überall wenigstens Andeutungen von Centrosphären vorzukommen (Polkappen).

b) Cytologie der Befruchtung und Keimung.

Das Verhalten der verschiedenen Florideen bei der Befruchtung und Keimung wurde in sehr geschickter Weise von Schmitz (83) zu systematischen Zwecken verwertet. Die von ihm (speziell nach dem Verhalten der sporogonen Fäden) aufgestellten fünf Gruppen dürften der natürlichen Zusammengehörigkeit bedeutend näher kommen, als die Einteilung, die man früher traf, indem man bei den Florideen rein äußerlich nach der Anordnung ihrer Seitenzweige an dem Hauptstamm einen Springfadentypus unterschied und einen Centralfadentypus.

Über die Sexualität der Florideen hat man schon viel gestritten. Ursprünglich war man geneigt, eine doppelte Befruchtung anzunehmen. Die Verschmelzung der sporogenen Fäden mit den Auxiliarzellen faßte man seit Schmitz (83) als einen zweiten Befruchtungsvorgang auf, bis Oltmanns (98) nachwies, daß das nicht stimmt. Es handelt sich nämlich dabei nur um eine Art Parasitierens des sporogenen Fadens auf der Auxiliarzelle. Kernverschmelzungen finden keine statt. Die Kerne der fusionierenden Zellen halten sich sogar in »respektvoller« Entfernung von einander.

Es war lange Zeit gar nicht so selbstverständlich, daß die Befruchtung auch bei den Florideen in der Verschmelzung eines Spermakerns mit dem Karpogonkern besteht. Noch 1896 sah Davis in der Vereinigung

von Spermaplasma mit Plasma der Trichogyne die eigentliche Befruchtung. Erst SCHMIDLE (99) bewies mit ziemlicher Sicherheit eine Vereinigung von Spermakern und Eikern. Aber auch er konnte die Vereinigung selbst noch nicht sehen.

Dagegen wissen wir von ihm, daß die Spermatien von *Batrachospermum* zur Zeit ihrer Ankunft an der Trichogyne zweikernig sind. Wenn beide Kerne oder gar mehrere Spermatiumkerne in die Trichogyne eindringen, dann degenerieren alle, bis auf einen, der die Befruchtung vollzieht. Denn die doppelte Anzahl der Spermatien an der Trichogyne war immer nur um eins größer als die Zahl ihrer Kerne. Folglich muß der fehlende Kern sich mit der Eizelle vereinigt haben. Daß dem wirklich so ist, daran wird wohl niemand zweifeln.

WOLFE (04) betrachtet die Spermatien der Rhodophyceen als Antheridien, und zwar deswegen, weil jedes Spermatium seinen Kern vor oder bei der Ankunft auf der Trichogyne noch einmal teilt, sozusagen also zwei befruchtungsfähige Individuen umschließt. KURSSANOW (09) beobachtete dagegen bei *Nemalion* stets nur einen Spermatiumkern. Die Spermatien von *Polysiphonia* sollen nach YAMANOUCHI sicher einkernig sein. Wahrscheinlich verhalten sich einzelne Gattungen verschieden. Bei *Batrachospermum* scheinen mit ziemlicher Sicherheit zwei Kerne in den reifen Spermatien zu sein. Diese wurden wenigstens von fast allen Forschern gesehen, wenn auch recht verschieden gedeutet. DAVIS (96) und OSTERHOUT (00) betrachten z. B. die Zweikernigkeit der Spermatien als Degenerationserscheinung, hervorgerufen durch Fragmentation, während WOLFE die beiden Kerne als das Produkt einer vollwertigen Mitose betrachtet und dementsprechend das Spermatium als Antheridium auffassen konnte. Sicher ist, daß nur ein Kern die Befruchtung vollzieht. In die Trichogyne können mehrere Spermatiumkerne eindringen. Doch gehen dort alle bis auf einen, den Befruchtungskern, zugrunde. Polyspermie, wie sie bei Fucaceen häufig ist, wurde für Rhodophyceen noch nicht beschrieben.

Zur Zeit des Einwanderns in die Trychogyne sind im Spermakern keine Chromatinkörnchen in einem Netzwerk zu sehen, sondern bereits 20 stäbchenförmige Chromosomen. Vor der Befruchtung wandert der etwas größere Karpogonkern dem Spermakern entgegen. Entsprechend dem Spermakern teilt sich auch der Eikern vor der Befruchtung in zwei: Der eine von diesen wird zum befruchtungsfähigen Karpogonkern, der andre wandert aus in die Trichogyne. Das melden übereinstimmend YAMANOUCHI für *Polysiphonia* und WOLFE für *Nemalion*. Allerdings führt dieser Trichogynkern ein sehr vergängliches Dasein. Er degeneriert

noch vor der Befruchtung und zerfällt in einzelne Körner. Das sind die »Richtungskörper«, die SCHMITZ (83) beschrieb.

Sobald die Befruchtung vollzogen ist, grenzt sich das Karpogon gegen die Trichogyne durch eine Membran ab. Die Trichogyne degeneriert dann allmählich. Sie hat also hier nicht den Charakter einer selbständigen Zelle wie das gleichnamige Gebilde der Flechtenpilze. Das hatte bereits OSTERHOUT (00) richtig erkannt.

c) Generationswechsel.

Die Geschlechtsorgane finden sich bei allen Rhodophyceen auf dem haploiden Thallus. Bei der Bildung der Geschlechtsprodukte kann also keine Reduktionsteilung stattfinden, wie das bei *Fucus* der Fall war. Durch den Sexualakt entsteht eine diploide Generation, welche bei den Nemalionales, die wir für sich betrachten wollen, nur auf den Gonimoblasten beschränkt ist. Schon bei der Karposporenbildung in den Endzellen der aus dem befruchteten Karpogon hervorsprossenden sporogenen Fäden, wird die Zahl der Chromosomen auf die Hälfte reduziert. Die Haploidgeneration ist hier also bedeutend besser ausgebildet als die Diploidgeneration.

Bei andern Untergruppen der Florideen sind die x und die 2 x Generationen ungefähr gleichwertig. Das ist dadurch möglich, daß in den Gang der Entwicklung eine Tetrasporengeneration eingeschaltet ist, welche — wie bei den Phäophyceen — der Haploidgeneration den Ursprung gibt. Dann sind die Karposporen noch diploid, verlieren zumeist aber ihren Zusammenhang mit der Geschlechtspflanze. Aus ihnen keimt eine neue Generation, welche sich habituell kaum von der Geschlechtspflanze unterscheidet, der Sporophyt. Das Ende dieser Generation stellt die Tetrasporenmutterzelle dar. Denn bei deren ersten Teilung findet die Reduktion der Chromosomen statt. Die Tetrasporen sind bereits wieder haploid. Dieser Gang wurde von einer Reihe von Gelehrten für verschiedene Florideen nachgewiesen. Ich erwähne vor allen Dingen YAMANOUCHI (06) — *Polysiphonia*; LEWIS (09) — *Griffithsia*; SVEDELIUS (11) — *Delesseria*.

Erinnern wir uns hier des für die Dictyotaceen geschilderten Generationswechsels, so können wir zwischen den Rhodophyceen und einer Reihe von Phäophyceen eine weitgehende Übereinstimmung im Modus des Generationswechsels feststellen, während es in dieser Hinsicht unter den Grünalgen gar keine Anknüpfungspunkte gibt. Bei den Rhodophyceen wird aber der Wechsel der Generationen gegenüber den Dictyotaceen dadurch etwas zugunsten des Sporophyten verschoben, daß zwischen die

Befruchtung und die Keimung noch ein Zwischenglied eingeschaltet wird, die sporogenen Fäden. Bei den Dictyotaceen entsteht aus jedem befruchteten Ei eine Tetrasporen tragende Generation. Bei den Rhodophyceen sind es deren viele, dank der Existenz der sporogenen Fäden, die an ihren Enden zahlreiche Karposporen bilden, aus denen je eine Tetrasporenpflanze hervorgeht. Die Rhodophyceen haben also eine viel größere Ausbreitungsmöglichkeit als die Phäophyceen, selbst vielen Fucaceen gegenüber, welche mehrere befruchtungsfähige Eier ausbilden und außerdem die Zahl ihrer Keimlinge noch oft durch Polyspermie vermehren (Yamanouchi).

Die sporogenen Fäden der Rhodophyceen bilden den Anfang der diploiden Generation. Sie sind allerdings noch nicht selbständig existenzfähig, sondern sind zeitlebens an den Gametophyten gebunden. Die Endzellen der sporogenen Fäden wandeln sich aber in Karposporen um, welche nach einer Ruheperiode dann den eigentlichen, selbständigen Sporophyten liefern. Der Sporophyt der Rhodophyceen zeigt also gegenüber dem der Phäophyceen eine bessere Ausbildung. Er übertrifft ihn, sowie den eigenen Gametophyten, an Lebensdauer um das Stadium der sporogenen Fäden. Stehen die Braun- und Rotalgen morphologisch auch ungefähr auf gleicher Organisationshöhe, so finden wir doch bei den Florideen, wenn auch nur in den ersten Anfängen, dieselbe Tendenz verwirklicht, die sich nachher bei den Filicinen und Lycopodineen in erhöhtem Maße geltend macht: eine bessere Ausbildung des Sporophyten gegenüber dem Gametophyten.

d) Systematische Bedeutung des Kerns.

Man hat schon oft versucht, die Florideen an *Coleochaete* anzuschließen. Inwiefern das im Hinblick auf die Cytologie berechtigt ist, ist schwer zu sagen. Es scheint, als ließen sich in bezug auf den Generationswechsel Anknüpfungspunkte feststellen: Der Sporophyt ist aller Wahrscheinlichkeit nach bei den Coleochäten auf eine einzige Zelle beschränkt, die Zygote. Weiter haben es auch die primitivsten Rotalgen, etwa *Porphyra*, nicht gebracht. Darauf weist bereits Lotsy hin. Dagegen zeichnen sich alle andern Florideen durch den Besitz eines wohl ausgebildeten Sporophyten aus, der allerdings anfangs noch nicht selbständig ist, sondern während seiner ganzen Lebensdauer vom Gametophyten ernährt wird (Nemalionales).

Leider wissen wir über den Bau des Zellkerns von *Porphyra* gar nichts, und die nächst *Porphyra* in Betracht kommenden Nemalionales haben offenbar einen Karyosomkern, den man gewiß nicht in Beziehung bringen

kann zu dem hoch entwickelten Kern der Coleochäten. Doch dürfen wir bei den Florideen auf den Aufbau des Zellkerns nicht allzuviel Gewicht legen für systematische Zwecke. Denn so scharf diese Algenfamilie durch den gleichen Bau der Geschlechtsorgane und die Art der Befruchtung als Gruppe für sich charakterisiert ist, so wenig harmonieren ihre einzelnen Vertreter im Bau ihrer Zellkerne. Von den fünf Unterabteilungen der Florideen, den Nemalionales, Cryptonemiales, Ceramiales, Gigartinales und Rhodymeniales stimmen, so weit unsre Kenntnisse heute reichen, nur die Nemalionales in ihrem Kernbau miteinander überein. Wolfe (04) und Kurssanow (09) beschrieben für sie übereinstimmend einen Karyosomkern. Inwieweit die Vertreter andrer Gruppen unter sich Ähnlichkeiten aufweisen, ist nicht zu überschauen. Die Resultate der Forschungen über die Ceramiales lassen nichts Gutes hoffen. *Polysiphonia* und *Delesseria* haben scheinbar normale Kerne. *Antithamnion* einen Kern mit wenig ausgeprägtem aber doch chromatinhaltigem Netzwerk. *Griffithsia* einen Karyosomkern. Um den Bau des Zellkerns der Florideen für systematische Zwecke verwerten zu können, müßten vor allen Dingen viel mehr Species untersucht werden. Vielleicht ließen sich dann doch Gesetzmäßigkeiten im Kernbau der einzelnen Unterabteilungen feststellen. Wie das Beispiel der Ceramiales zeigt, kommen aber neben normal gebauten Kernen auch typische Karyosomkerne und sogar Formen mit einer Art Übergang zwischen diesen beiden Kerntypen vor. Dieser Übergang besteht darin, daß der Außenkern wohl noch Chromatin in Form von Körnern enthält, daß er aber im übrigen keine Struktur mehr erkennen läßt, vielmehr wie ein heller Hof um den Nucleolus aussieht. In der Telophase verklumpen denn auch die Chromosomen vorübergehend zu einem nucleolusartigen Körper, ähnlich wie bei *Spirogyra*, lösen sich aber nach einiger Zeit dann doch auf in einzelne Körnchen, die sich wieder über den strukturlosen Kernraum verteilen (*Corallina* — Davis [98]).

Es ist uns also nicht möglich, die Florideen in bezug auf ihren Kernbau als eine in sich abgeschlossene Familie zu betrachten, zumal neben einkernigen auch vielkernige Formen vorkommen. Als Beleg dafür möchte ich neben *Callithamnion corymbosum* (Schmitz) besonders *Griffithsia* herausgreifen. Lewis (09) zählte in jungen Zellen schon 12—75 Kerne, mit zunehmendem Alter und Größe wächst die Zahl der Kerne fast ins Ungeheuerliche. Lewis schätzt in großen Zellen die Zahl der Kerne auf 3—4000!

Schlußwort und Zusammenfassung der Resultate.

Damit bin ich mit der Besprechung der einzelnen Algenfamilien zu Ende. Die Cyanophyceen mit ihren eigenartigen Kernverhältnissen bleiben natürlich außerhalb unsrer Betrachtung. Die Literatur über verwandte Organismen, vor allen Dingen Chlamydomonaden und algenähnliche Flagellaten, die durch KLEBS eine große Bedeutung für die Systematik der Algen erlangt haben, konnte hier auch keine Berücksichtigung finden.

Auf Grund der vorliegenden Literatur, zu deren Verständnis ich mich bemüht habe, möglichst aus jeder großen Familie der mir allein zugänglichen Grünalgen einen Vertreter durch eigene Anschauung kennen zu lernen — eingehender beschäftigte ich mich mit dem Bau und der Teilung des Kerns von *Microspora amoena* — komme ich zu folgendem Resultat in bezug auf die Verwertbarkeit der Zellkerne zu systematischen Zwecken:

So sehr die Kerne der Algen in ihrem Aufbau und ihrem Verhalten Abweichungen zeigen, so stimmen doch im großen und ganzen die Kernverhältnisse in den als verwandt zusammengefaßten Gruppen überein. Auf den ersten Anblick möchte man als Norm aufstellen, daß die Kerne der Algen gar keine Beziehung zur Systematik hätten. Denn die Kerne sind in dem großen und sehr mannigfaltigen Geschlecht der Algen recht heterogene Dinge. Wir finden alle Sorten von Kernen vertreten, von primitiven Karyosomkernen bis zu Kernen, die sich von denen der höheren Pflanzen in nichts unterscheiden. Immerhin können wir aber die Formen mit Karyosomkernen unter den Algen als Ausnahmen bezeichnen. Mit Sicherheit sind Karyosomkerne nur für wenige Formen beschrieben, so für *Spirogyra*, *Sphaeroplea* und die Nemalionales.

An tierische Objekte erinnern die oft vorkommenden Centrosomen, besonders die der niederen Formen (Diatomeen). Die Anzahl der Kerne in jeder Zelle spielt — allgemein gesprochen — für die Systematik keine so große Rolle wie deren Bau. Es ist aber nicht richtig, ihr jegliche Bedeutung für systematische Zwecke abzusprechen. Die Regel ist natürlich Einkernigkeit der Zellen. Daß aber auch Ausnahmen vorkommen, dafür sind als klassisches Beispiel die Confervales bekannt. Die meisten Vertreter dieser Familie, darunter *Conferva* selbst, sind für gewöhnlich einkernig. Dagegen sind Formen wie *Ophiocytium* und *Botrydium* mehrkernig. *Botrydium* hat man — vielleicht nicht mit Unrecht — gerade deswegen neuerdings wieder von den Confervales getrennt und zu den Si-

phonales gestellt. Für die Siphonocladiales und die Siphonales dagegen ist die Vielkernigkeit ein Hauptcharakteristikum. Bei den Florideen kommen dann wieder einkernige und vielkernige Formen oft innerhalb ein und derselben Art vor. So beschrieb Schmitz für die sonst einkernigen Callithamnien auch Formen von *Callithamnion corymbosum*, die mehrere Kerne aufwiesen, allerdings in schon älteren und größeren Zellen. Das ist aber eine nicht nur unter den Algen verbreitete Erscheinung, daß die Zahl der Kerne mit dem Umfang der Zelle zunimmt. Freilich gilt das nicht für alle Algen. Es sind immer nur ganz bestimmte Gruppen, welche im Alter Neigung zur Vielkernigkeit zeigen. Vor allen Dingen finden sich vielkernige Zellen unter den Phäophyceen und den Rodophyceen. Von den letzteren ist *Griffithsia* sogar in der Jugend mehrkernig.

Lassen wir die Resultate der vorliegenden Arbeit noch einmal an unsrem Auge vorüberziehen, so können wir die verschiedenen Algenfamilien in bezug auf ihre Zellkerne folgendermaßen charakterisieren:

Die Kerne der Konjugaten zeigen — mit Ausnahme der vielumstrittenen *Spirogyra* — keine Abweichungen vom typischen Bau eines Kerns der höheren Pflanzen. Charakteristisch für sie ist das Verhalten des Kerns bei der Konjugation, das ganz entschieden für eine Zusammengehörigkeit der unter dem Namen Conjugatae vereinigten Algen spricht.

Die Kerne der Diatomeen unterscheiden sich von denen aller andern Organismen durch die aus dem Centrosom hervorgehende Centralspindel.

Die Peridineen zeichnen sich durch einen erheblichen Gehalt an Chromatin aus, das — wohl allgemein — in Form von Fäden auf den Kern verteilt ist. Die Kernteilung verläuft hier abweichend vom gewöhnlichen Modus. Die Chromosomen werden nicht längs, sondern bei den meisten Formen quer gespalten. Hernach wird der ganze Kern einfach durchschnürt.

Aus der großen Gruppe der Grünalgen, deren Kerne, soweit uns bekannt, nur mit einziger Ausnahme von *Sphaeroplea* sich weder in der Ruhe, noch bei der Teilung von denen der höheren Pflanzen unterscheiden, schälen wir zwei Familien heraus, die zwar auch einen »normal« gebauten Kern haben, aber bei der Teilung sich abweichend verhalten. Die Abweichung bezieht sich auf das zwischen den beiden Kernhälften zurückbleibende Verbindungsstück, mag das nun aus dem Nucleolus oder aus der Kernmembran hervorgegangen sein. Diese beiden Familien sind die Siphonocladiales und die Siphonales. Beide zeichnen sich außerdem durch Vielkernigkeit aus.

Die Familie der Charales fällt auf durch das häufige Vorkommen von Amitosen.

Centrosomen mit Plasmastrahlung als Zellorgane sind charakteristisch für die Phäophyceen, während es nicht möglich ist, die Rhodophyceen nach ihrem Kernbau als geschlossene Gruppe zu charakterisieren.

Für die systematische Gruppierung der Algen ist das Verhalten der Kerne bei der Befruchtung und Keimung sehr wichtig. Ich verweise hier auf die kurzen Zusammenfassungen, die ich am Schlusse der einzelnen Kapitel gab.

Die Cytologie bestätigt also das geltende System der Algen. Neue Beziehungen konnten wir keine aufdecken, höchstens alte Unsicherheiten bestätigen. Das gilt vor allen Dingen für die Diatomeen. Diese Familie ist in sich sehr gut abgeschlossen, ermangelt aber jeglicher Übergangsformen zu andern Gruppen, seien das nun Algen oder Flagellaten. Nicht viel besser geht es uns bei den Florideen oder gar den Characeen. Dagegen haben andre Algenfamilien so charakteristisch gebaute Kerne, daß man sogar in vielen Fällen aus dem Bau des Zellkerns und seinem Verhalten bei der Teilung Schlüsse ziehen kann auf die Zugehörigkeit zu einer bestimmten Familie. Ein paar Beispiele dafür:

Es ist eine Algenzelle vorgelegt, deren Kern ein Centrosom hat. Ist Plasmastrahlung um das Centrosom vorhanden, so ist mit ziemlicher Sicherheit auf einen Vertreter der Phäophyceen zu schließen. (Rhodophyceen sind zu wenig bekannt.) Fehlt die Plasmastrahlung um das Centrosom, so kommen nur noch die Diatomeen in Betracht.

Haben wir ein typisches Bild einer Karyokinese mit Spindel und gut ausgebildeten Chromosomen, dabei zwischen den auseinanderweichenden Kernhälften noch ein Verbindungsstück, so gehen wir nicht fehl, auf einen Vertreter der Siphonocladiales oder der nahe verwandten Siphonales zu schließen.

Auf jeden Fall glaube ich gezeigt zu haben, daß der Bau der Kerne, sowie deren Verhalten bei der Teilung und ganz besonders dem Sexualakt, sehr wohl für systematische Zwecke verwertbar, bei manchen Algengruppen sogar notwendigerweise zu berücksichtigen ist.

Methoden.

Bei vielen Algen, z. B. Peridineen, Diatomeen, Konjugaten und Chlorophyceen ist der Kern manchmal im Leben zu sehen. Abgesehen von Peridineen läßt er aber von Struktur nichts erkennen. Da uns bis heute keine Lebendfärbungen für Algenkerne bekannt sind, sind wir eben gezwungen, die Objekte abzutöten und dadurch eine Färbung der Kerne möglich zu machen.

Es ist gerade bei den Algen keine Kleinigkeit, gute Kernpräparate zu bekommen. Die Behandlung der Algenzellen erfordert die größte Vorsicht und Gewissenhaftigkeit.

Ich habe die verschiedensten Fixierungs- und Färbemethoden für Algenkerne ausprobiert und gebe hier meine Erfahrungen kurz wieder.

Die meisten Algen wurden an Ort und Stelle fixiert, oder aber auch in Kultur genommen. Selbstredend kann man so kleine Objekte nur in Massen fixieren. Von Fixierungsmitteln wurden vornehmlich in Anwendung gebracht:

Pikrinsäure in konzentrierter Lösung.

Chromsäure. Ihrer bediente ich mich zumeist der Bequemlichkeit halber auf Exkursionen. Sie wurde als 50% Lösung mitgeführt und vermittelst eines Tropfglases auf die nötige Verdünnung (2—3%) gebracht. Nach 24stündiger Einwirkung waren die Kerne sehr gut fixiert und standen, was ihre Färbbarkeit anbelangt, den mit Flemming fixierten Kernen nicht nach.

Chromessigsäure wurde ebenfalls mit Erfolg angewendet, gab aber lange nicht die Bilder, die man mit

Chromosmiumessigsäure erzielt. Vor allen Dingen weisen die mit dem starken Flemmingschen Gemisch ($^1/_2$stündige Einwirkung) fixierten Kerne die schärfsten und klarsten Einzelstrukturen auf. Auch die Färbungen gelingen an solchen Kernen sehr gut, doch müssen die Kerne länger gebeizt werden, als die mit Chromsäure allein fixierten.

Wichtig — auch für die andern Fixierungsmittel ist, daß man die Präparate gut auswäscht. Ich machte das so, daß ich die Algen in ein Päckchen brachte, das ich durch Zusammenfalten von Filtrierpapier herstellte und mit einem Glashäkchen beschwert eine halbe Stunde lang in fließendes Wasser brachte, nachdem vorher die Algen mit destilliertem Wasser abgewaschen waren. Es empfiehlt sich, dem destillierten Wasser eine Spur eines Alkali zuzusetzen, um die Objekte zu neutralisieren. Ferner wurde ein von Pfeiffer R. v. Wellheim empfohlenes Gemisch von gleichen Teilen Formol, Holzessig und Methylalkohol, auf die Hälfte mit Wasser verdünnt, verwendet. Die Resultate damit waren recht zufriedenstellend. Die Algen verweilen einen Tag in dem Fixierungsgemisch, können aber auch ruhig länger, nach Pfeiffer R. v. Wellheim sogar Monate lang ohne Schädigung darin bleiben.

Dieses Fixierungsmittel hat auch die gute Eigenschaft, daß es erlaubt, die Algen, ohne Schrumpfung befürchten zu müssen, gleich in 50% Alkohol zu bringen.

Alkohol abs. fixiert die Kerne gut, bewirkt aber zu starke

Schrumpfung der Zelle, sodaß zumeist der Kern nicht mit genügender Schärfe zu sehen ist. Desgleichen plasmolysieren alkoholische Fixierungsflüssigkeiten wie Carnoy und Juel die Zellen. Ausnahmsweise erhielt ich aber auch mit diesen Flüssigkeiten gute Resultate, vor allem bei Algen mit konzentrierterem Zellinhalt, z. B. *Stigeoclonium*, *Conferva* usw. Dagegen bekam ich mit Merckel nur selten gute Fixierungen.

May-Grünwald (in Kombination mit Giemsa-Färbung) kommt als Fixierungsmittel für Algen nicht in Betracht. Erstens wirkt es etwas plasmolysierend. Viele zarte Objekte, wie *Mougeotia*, einige schmale, langzellige Spirogyren und vor allem *Hormidium*, wurden total zerrissen und zerfielen in 2—3zellige Stückchen, die nur schwer weiter zu behandeln waren. Zweitens färbt es die Zellmembran dermaßen, daß die Durchsicht durch die Zelle schlecht wird. Die Kerne sind an und für sich ganz gut gefärbt, aber ihre Färbung erscheint nur diffus, weil eben die Zellwand ebenfalls gefärbt ist.

Für das Studium der Pyrenoide bei den Desmidiaceen kann ich aber die Giemsa-Färbung nach vorausgegangener Fixierung mit May-Grünwald sehr empfehlen.

Färbungen.

Bei weitem die besten Resultate ergaben die verschiedenen Hämatoxyline. Sie wurden nach einigen schlechten Erfahrungen mit andern Farbstoffen fast ausschließlich verwendet. Heidenhains Eisenhämatoxylin färbt auch die Algenkerne am besten. Jedoch wird seine Anwendung hier dadurch erschwert, daß die Pyrenoide sich fast genau so färben, wie die Kerne. In ganz kleinen Zellen sind deshalb oft Verwechslungen möglich.

Bei *Cladophora* gelang es mir, diesen störenden Einfluß der Pyrenoide auszuschalten durch Anwendung von Delafields Hämatoxylin. *Cladophora* nimmt den Farbstoff sehr rasch auf, gibt ihn beim Differenzieren aber ebenso rasch wieder ab. Es ist also große Vorsicht geboten, will man gute Präparate bekommen. Sehr zufriedenstellende Färbungen lieferte auch das Heglersche Hämatoxylin.

Für rasche Orientierungen empfehle ich eine Färbung mit Hämalaun. (Herstellung siehe Strasburgers botanisches Praktikum.)

Die andern Färbemittel reichen in ihrer Güte lange nicht an die Hämatoxyline heran. Ich probierte noch: Lichtgrün, Safranin, Fuchsin, Säurefuchsin, Methylenblau (Lebendfärbungen mißglückten), Methylengrün, Methylgrünessigsäure, Eosin und alle möglichen Kombinationen dieser Farbstoffe. Das sonst für Kernfärbungen ausgezeichnete Drei-Farben-Gemisch Safranin-Gentianaviolett-Orange G eignet sich

nicht für Algen, weil dadurch auch die Zellwände und das Plasma gefärbt werden, was ein scharfes Bild des Zellkerns beeinträchtigt. Außerdem ist das Safranin in Alkohol gelöst. Es treten also schon bei der ersten Färbung Schrumpfungen auf. Noch viel mehr aber beim Entwässern der Algen im Alkohol. Da alle drei Farbstoffe in Alkohol sehr leicht löslich sind, muß das Entwässern möglichst rasch geschehen, will man überhaupt noch etwas von Farbe ins Xylol bringen. Ebenso treten Schrumpfungen auf bei Färbung mit den verschiedenen Karminen. Sie wurden meistens im Anschluß an die Pikrinsäurefixierung in Anwendung gebracht. Sie alle lieferten aber lange nicht die Bilder, die ich mit den Hämatoxylinen bekam.

Die Dauer der Einwirkung der Farbstoffe ist bei verschiedenen Algen sehr verschieden. Die meisten Algen werden mit HEIDENHAIN Hämatoxylin 24 Stunden gefärbt. Für *Cladophora* genügte aber vollauf eine halbe Stunde.

Aufbewahren.

Die allermeisten Präparate wurden in Kanadabalsam aufbewahrt. Dazu müssen sie zuerst entwässert und durch Xylol gebracht werden. Das sind hier sehr heikle Operationen und verlangen die größte Vorsicht des Experimentators. Für die Alkohole leistet der SCHULZEsche Entwässerungsapparat gute Dienste (STRASBURGER, Prakt. S. 359).

Auf S. 360 bildet STRASBURGER in seinem Praktikum auch einen Apparat ab, der die Überführung der Algen vom Alkohol in das Xylol erleichtert. Da ich mit diesem Apparat aber keineswegs zufrieden war (die Algenwatten blieben nämlich lange an der Berührungsstelle von Alkohol und Xylol liegen und sanken dann plötzlich bei irgend einer Erschütterung ins Xylol, sodaß doch sehr viele Schrumpfungen vorkamen), konstruierte ich mir selbst eine Vorrichtung, mit deren Hilfe ich die Algen ohne Schrumpfung vom Alkohol ins Xylol bringen konnte. Ich verwendete dazu einen Tropftrichter und ein Reagensglas. Das Reagensglas war etwa zur Hälfte mit absolutem Alkohol gefüllt, in dem die Algen sich befanden. Der Behälter des Tropftrichters wurde mit Xylol gefüllt. Die Ausflußöffnung des Tropftrichters endete etwa 2—3 cm über der Oberfläche des Alkohols, sodaß jeder Tropfen Xylol auf die Oberfläche des Alkohols auffiel, sich dort fein zerteilte und ganz langsam zu Boden sank. Auf diese Weise kam das Xylol, das man in langen Zwischenräumen heruntertropfen läßt, ganz allmählich zu den am Boden des Reagensglases liegenden Algen. Der specifisch leichtere Alkohol floß in dem Maße oben ab, wie das Xylol zufloß. Man tut gut daran, das Reagensglas durch einen

Korken zu verschließen, der seitlich einen Einschnitt hat, um die Luft und den Alkohol herauszulassen.

Vorsicht ist auch geboten beim Übertragen der Algen von Xylol in Kanadabalsam. Ich machte das so, daß ich den Kanadabalsam (meist erst auf dem Objektträger) sehr stark mit Xylol verdünnte, dann die Algen hineinbrachte und nun das Xylol vorsichtig auf dem Wärmschrank verdunsten ließ.

Jedenfalls gehört eine große Übung dazu, tadellose Kernpräparate von Algen herzustellen. Dem Einbetten in Paraffin ließ ich die Färbung vorangehen.

Lange Zeit habe ich mir bei *Stigeoclonium*, *Hormidium*, *Conferva* und andern Algen viele Mühe gegeben und peinlichst die Färbevorschriften befolgt, ohne jedoch einen Kern mit einiger Sicherheit zu Gesicht zu bekommen. Geradezu überraschend waren aber die Resultate, als ich nach dem Färben etwas Chloralhydrat (5:1 Wasser) zu den Präparaten zusetzte. Da verquoll dann der ganze Zellinhalt, auch der Kern etwas. Aber der Kern behielt seine Farbe vollständig, während alle andern Inhaltsbestandteile der Zelle nur noch diffus gefärbt waren. In zweifelhaften Fällen brachte ich immer Chloralhydrat zur Anwendung und erzielte befriedigende Resultate damit. Chloraljod (nur so viel Jodzusatz, daß die Mischung gelbbraun, fast gelb aussieht) läßt die Pyrenoide in den meisten Fällen von den Kernen unterscheiden. Es färbt den Stärkehof um die Pyrenoide blau.

Literaturverzeichnis.

1905. Allen, Ch. E. Die Keimung der Zygote bei Coleochaete. Ber. d. d. bot. Ges. 1905. S. 285—292.

1855. Allmann, G. J. Observations on Aphanizomenon etc. Quart. Journ. of microsc. Sciences. III. 1855. (Zitiert nach Klebs 1912.)

1858. Bary, A. de. Untersuchungen über die Familie der Conjugaten. Leipzig 1858.

1886. Behrens, J. Befruchtungsvorgänge bei Fucus vesiculosus. Ber. d. d. bot. Ges. 1886. S. 94—103.

1890. —— Einige Beobachtungen über die Entwicklung des Oogons und der Oosphäre von Vaucheria. Ber. d. d. bot. Ges. 1890. Bd. VIII. S. 314—318.

1890. —— Zur Kenntnis einiger Wachstums- und Gestaltungsvorgänge in der vegetabilischen Zelle. Bot. Ztg. Jahrg. 48. 1890. S. 113.

1894. Belajeff, Über den Bau und die Entwicklung der Spermatozoiden der Pflanze. Flora. Bd. LXXIX. 1894. S. 1—48 (29!).

1906. Berghs. Le noyau et la cinèse chez le Spirogyra. La Cellule. T. XXIII. 1906.

1880. Berthold, G. Die geschlechtliche Fortpflanzung von Dasycladus clavaeformis. Bot. Ztg. 1880. S. 649—651.

1880. —— Zur Kenntnis der Siphoneen und Bangiaceen. Mitt. a. d. zool. Stat. zu Neapel. Bd. II. 1880. S. 72—82.

1886. —— Studien über Protoplasmamechanik. Leipzig 1886.

1894. Blochmann, F. Über die Kernteilung bei Euglena. Biol. Centralbl. Bd. XIV. 1896. S. 194—197.

1910. Borgert, A. Kern- und Zellteilung bei marinen Ceratiumarten. Arch. f. Protistenk. Bd. XX. 1910.

1912. —— Eine neue Form der Mitose bei Protozoen. Verhandl. des VIII. internat. zool. Kongr. zu Graz, 15.—20. Aug. 1910. Jena 1912. S. 408—418.

1885. Bütschli, O. Einige Bemerkungen über gewisse Organisationsverhältnisse der Cilioflagellaten und Noctiluca. Mit einem Beitrag von E. Askenasy. Morph. Jahrb. Bd. X. 1885. S. 529—577.

1891. —— Über die sogenannten Centralkörper der Zelle und ihre Bedeutung. Verh. d. naturhist. med. Ver. zu Heidelberg. N. F. Bd. IV. 1891.

1884. Carnoy. La biologie cellulaire. 1884.

1890. Chemielewsky, W. Matériaux pour servir à la morphologie et physiologie des proces sexuels chez les plantes inférieures. (Russisch, zit. nach Tröndle, 1911.) 1890.

1909. Dangeard. Sur les phénomènes de fécondation chez les Zygnema. Compt. rend. de l'acad. d. sc. d. Paris 1909. T. CXLVIII. p. 1406—1407.

1896. Davis, B. M. The fertilization of Batrachospermum. Annals of Botany. Vol. X. 1896. p. 49—76.

1898. —— Kernteilung in der Tetrasporenmutterzelle bei Corallina officinalis, var. mediterranea. Ber. d. d. bot. Ges.

1904. —— Oogenesis in Vaucheria. Bot. Gaz. Vol. XXXVIII. 1904. p. 81—98.

1910. —— Nuclear phenomena of sexuel reproduction in algae. Americ. naturalist. Vol. XLIX. 1910. . 513—532.

1897. Debski, B. Beobachtungen über Kernteilung bei Chara fragilis. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXX. 1897. S. 227.

1898. —— Weitere Beobachtungen über Chara fragilis. Daselbst S. 635.

1893. Degagny, Sur les matières formées par le nucléole chez le Spirogyra setiformis etc. Comptes rendus. T. CXVI. 1893. S. 269.

1893. —— Sur la morphologie du noyau cellulaire chez les Spirogyras etc. Ibidem. T. CXVI. 1893. p. 535.

1893. —— Sur la concordance des phénomènes de la division du noyau chez les Spirogyras etc. Ibidem. T. CXVI. 1893. p. 1397.

1906. Dogiel. Beiträge zur Kenntnis der Peridineen. Mitt. a. d. zool. Stat. zu Neapel. Bd. XVIII. 1906.

1907. Entz, G. jun. Über ein Süßwasser Gymnodinium. Különlenyomat az Állatani Közlemények IX kötetének 4 füretéböl 1907.

1909. —— Über die Organisationsverhältnisse einiger Peridineen. Math. und naturw. Ber. aus Ungarn. Bd. XXV. 1909.

1907. Escoyez, E. Le noyau et la caryocinèse chez le Zygnema. La Cellule. T. XXIV. 1907.

1909. —— Caryocinèse, centrosome et kinoplasme dans le Stypocaulon scoparium. La Cellule. T. XXV. 1909.

1894. Fairchild, D. Ein Beitrag zur Kenntnis der Kernteilung von Valonia. Ber. d. d. bot. Ges. 1894.
1896. Farmer, D. B. and Williams, J. L. On fertilization and the segmentation of the spore in Fucus. Annals of Botany. Vol. X. 1896. p. 479—487.
1898. —— Contributions to our knowledge of the Fucaceae their life-history and cytology. Philos. Transact. of the Roy. soc. of London. Vol. CXC. Series B. 1898. p. 623—645.
1882. Flemming, W. Zellsubstanz, Kern- und Zellteilung. Leipzig 1882.
1851. Fresenius, G. Über Sphaeroplea annulina. Bot. Ztg. 1851. Bd. XIII.
1910. Gardner, N. L. Variations in the nuclear extrusion among the Fucaceae. Univ. of Calif. Publ. Bot. Vol. IV. 1910. p. 121—133.
1908. Georgewitsch. Zur Nucleolusfrage. Beitr. z. bot. Centralbl. Bd. XXIII. 1908.
1892. Gerassimoff, J. Über die kernlosen Zellen bei einigen Conjugaten. Bulletin de la soc. imp. des naturalistes de Mosc. T. VI. 1892.
1896. —— Über ein Verfahren, kernlose Zellen zu erhalten. Ebenda. Bd. X. 1896.
1897. —— Über die Kopulation der zweikernigen Zellen bei Spirogyra. Ebenda. 1897. Bd. XI. S. 494.
1899. —— Über die Lage und Funktion des Zellkernes. Ebenda. Bd. XIII. 1899. S. 220.
1900. —— Über den Einfluß des Kerns auf das Wachstum der Zelle. Ebenda. Bd. XIV. 1900. S. 185—220.
1902. —— Die Abhängigkeit der Größe der Zelle von der Menge ihrer Kernmasse. Zeitschr. f. allg. Physiologie. Bd. I. 1902. S. 220.
1899. Goetz, G. Über die Entwicklung der Eiknospe bei den Characeen. Bot. Ztg. Bd. LVII. 1899. S. 1.
1899. Golenkin, M. Algologische Mitteilungen. (Über die Befruchtung bei Sphaeroplea annulina und die Struktur der Zellkerne bei einigen grünen Algen.) Bull. d. l. soc. imp. des nat. de Moscou. 1899. S. 343.
1883. Gourret, P. Sur les Péridiniens du Golfe de Marseille. Ann. mus. de Marseille. Bd. I. 1883 (zit. nach Klebs, 1884).
1910. Haase, Gertraud. Zur Kern- und Fadenteilung von Ulothrix subtilis. Arch. f. Hydrobiologie u. Planktonkunde. Bd. V. 1910. S. 167—168.
1890. Haberlandt, Zur Kenntnis der Conjugation bei Spirogyra. Sitzgsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien. 1890. S. 390.
1908. Heidinger, W. Die Entwicklung der Sexualorgane bei Vaucheria. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XXVI. 1908. S. 313—363.
1883. Heinricher, E. Zur Kenntnis der Algengattung Sphaeroplea. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. I. 1883. S. 433—450.
1910. Hoyt, W. D. Alternation of generations and sexuality in Dictyota dichotoma. Bot. Gaz. Vol. XLIX. 1910. p. 55—57.
1894. Humphrey, J. E. Nucleolen und Centrosomen. Ber. d. d. bot. Ges. 1894. S. 115—116.
1894. Ikeno, S. On the behaviour of the nuclei during the conjugation of Zygnema. Bot. magazine. Vol. V. 1894.
1881. Johow. Die Zellkerne von Chara foetida. Bot. Ztg. Bd. XXXII. 1881. S. 729—743; 745—753.
1910. Jollos, V. Dinoflagellatenstudien. Arch. f. Protistenkunde. Bd. XIX. 1910.

1895. Jost, L. Beiträge zur Kenntnis der Coleochaeten. Ber. d. d. bot. Ges. 1895. S. 433.

1896. Kaiser, O. Über Kernteilungen der Characeen. Bot. Ztg. 1896. Bd. LIV. S. 61—79.

1896. Karsten, G. Untersuchungen über Diatomeen. I. Flora. Bd. LXXXII. 1896. S. 286—296.

1897. —— Untersuchungen über Diatomeen. II. Ebenda. Bd. LXXXIII. 1897. S. 33—53.

1897. —— Untersuchungen über Diatomeen. III. Ebenda. Bd. LXXXIII. 1897. S. 203—222.

1900. —— Die Auxosporenbildung der Gattungen Cocconeis, Surirella und Cymatopleura. Ebenda. Bd. LXXXVII. 1900. S. 253—283.

1909. —— Entwicklung der Zygoten von Spirogyra jugalis. Ebenda. Bd. XCIX. 1909. S. 1—11.

1912. —— Über die Reduktionsteilung bei der Auxosporenbildung von Surirella saxonica. Zeitschr. f. Bot. Bd. IV. 1912. S. 417—426.

1895. Keuten, J. Die Kernteilung von Euglena viridis. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LX. 1895. S. 215—235.

1888. Klebahn, H. Über die Zygosporen einiger Conjugaten. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. VI. 1888. S. 160.

1891. —— Studien über Zygoten. I. Die Keimung von Cosmarium und Closterium. Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXII. 1891. S. 415.

1892. —— Studien über Zygoten. II. Die Befruchtung von Oedogonium Boscii. Ebenda. Bd. XXIV. 1892. S. 255.

1895. —— Beobachtungen über Pleurocladia lacustris. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XXVIII. 1895. S. 93—106.

1896. —— Beiträge zur Kenntnis der Auxosporenbildung. Rhopalodia gibba. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXIX. 1896.

1899. —— Die Befruchtung von Sphaeroplea annulina. Festschr. f. Schwendener. Berlin. 1899. S. 81.

1883. Klebs, G. Über die Organisationsverhältnisse einiger Flagellatengruppen und ihre Beziehungen zu Algen und Infusorien. Unters. a. d. bot. Inst. zu Tübingen. I. 1883. S. 233—362.

1884. —— Ein kleiner Beitrag zur Kenntnis der Peridineen. Bot. Ztg. Bd. XLII. 1884. S. 721—733; 737—745.

1887. —— Über den Einfluß des Kerns in der Zelle. Biol. Centralbl. Bd. VII. 1887. S. 161—168.

1888. —— Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle. Unters. a. d. bot. Inst. zu Tübingen. Bd. II. 1888. S. 489—568.

1896. —— Fortpflanzung der Algen und Pilze. Jena 1896.

1912. —— Über Flagellaten- und Algen ähnliche Peridineen. Verh. d. naturhist.-med. Vereins Heidelberg. Bd. XI. 1912. S. 369—451.

1909. Kurssanow, L. Beiträge zur Cytologie der Florideen. Flora. Bd. XCIX. 1909. S. 311—336.

1911. —— Über Befruchtung, Reifung und Keimung bei Zygnema. Flora. Bd. CIV. 1911. S. 65—84.

1911. —— Über die Teilung der Kerne bei Vaucheria. Biol. Zeitschr. Bd. II. 1911. S. 13—26.

1895. Lauterborn, R. Protozoenstudien I. Kern und Zellteilung von Ceratium Hirundinella. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LIX. 1895. S. 167—190.

1896. —— Untersuchungen über Bau, Kernteilung und Bewegung der Diatomeen. Leipzig, Engelmann, 1896.

1909. Lewis, J. F. The Lifehistory of Griffithsia Bornetiana. Annals of Botany. Bd. XXIII. 1909. p. 639—690.

1907. Lotsy, J. P. Vorträge über botanische Stammesgeschichte. Bd. I. Algen und Pilze. Jena, Fischer, 1907.

1862. Lüders, J. E. Beobachtungen über die Organisation, Teilung und Kopulation der Diatomeen. Bot. Ztg. Bd. XX. 1862. S. 41—43; 49—52; 57—61; 65—67.

1910. Lutman, B. F. The cell structure of Closterium Ehrenbergii and Closterium moniliferum. Bot. Gaz. Vol. XLIX. 1910. p. 241—254.

1881. Macfarlane. The structure and division of the vegetable cell. Cells of Spirogyra nitida. Transact. and proceed of the botan. soc. of Edinburgh. Bd. XIV. 1881. (Zit. nach späteren Autoren, Strasburger [88], Berghs [06]).

1906. Merriman, M. L. Nuclear division in Zygnema. Bot. Gaz. Vol. XLI. 1906. S. 43—52.

1887. Meunier, A. Le nucléole des Spirogyra. La Cellule. T. III. 1887.

1913. Meyer, K. Über die Microspora amoena (Kütz.) Rab. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XXXI. 1913. S. 441—448.

1897. Migula, W. Characeen. Rabenhorsts Kryptogamenflora. 2. Aufl. 1897.

1898. Mitzkewitsch, L. Über die Kernteilung bei Spirogyra. Flora. Bd. LXXXV. 1898. S. 81—124.

1893. Moll, J. W. Observations on karyokinesis in Spirogyra. Verh. d. kon. Akad. van Wetensch. te Amsterdam. Abt. Naturwiss. Bd. II. 1893.

1898. Mottier, D. M. Das Centrosom bei Dictyota. (Vorl. Mittlg.) Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XVI. 1898. S. 123—128.

1900. —— Nuclear and cell division in Dictyota dichotoma. Annals of Botany. Vol. XIV. 1900. p. 163—192.

1900. Nathanson, A. Physiologische Untersuchungen über amitotische Kernteilung. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXV. 1900. S. 48—79.

1904. —— Kritische Bemerkungen zu van Wisselingh: Über abnormale Kernteilung. Bot. Ztg. Bd. LXII. 1904. S. 17—20.

1909. Němec, B. Zur Mikrochemie der Chromosomen. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XXVII. 1909. S. 43—47.

1910. —— Über die Kernteilung bei Cladophora. Bull. intern. de l'Acad. d. sciences de Bohême. 1910.

1910. Nienburg, W. Die Oogonentwicklung bei Cystosira und Sargassum. Flora. N. F. Bd. I. 1910. p. 167—180.

1889. Oltmanns, F. Beiträge zur Kenntnis der Fucaceen. Bibliotheca botanica. Hft. 14. 1889.

1895. —— Über die Entwicklungsgeschichte der Sexualorgane bei Vaucheria. Flora. Bd. LXXX. 1895. S. 388—420.

1898. —— Die Entwicklung der Sexualorgane bei Coleochaete pulvinata. Ebenda. Bd. LXXXV. 1898. S. 1—14.

1898. —— Die Entwicklungsgeschichte der Florideen. Bot. Ztg. 1898. Bd. LXXXV. S. 99—140.

1904. Oltmanns, F. Morphologie und Biologie der Algen. Jena, Fischer. Bd. I. 1904. Bd. II. 1905.

1888. Overton, Über den Conjugationsvorgang bei Spirogyra. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. VI. 1888. S. 68.

1894. Pfeiffer, Ferd., R. v. Wellheim, Zur Präparation der Süßwasseralgen. (Mit Ausschluß der Cyanophyceen und unter besonderer Berücksichtigung der Chlorophyceen.) Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXVI. 1894. S. 1—59.

1898. —— Beiträge zur Fixierung und Präparation der Süßwasseralgen. Österr. bot. Zeitschr. Bd. XLVIII. 1898.

1883. Pouchet, G. Contributions à l'histoire chez les Cilioflagellées. Joun. de l'Anat. et Physiol. 1883 (zit. nach Klebs, 1912).

1852. Pringsheim, N. Algologische Mitteilungen I. Über die Keimung der ruhenden Sporen . . . bei Spirogyra. Flora. 1852.

1888. Rauwenhoff, N. W. P. Recherches sur le Sphaeroplae annulina. Arch. néerl. des sc. exact. et nat. T. XXII. 1888.

1912. Rigg, G. and Dalgity, A. D. A note on the generations of Polysiphonia. Bot. Gaz. Vol. LIV. 1912. p. 164—165.

1911. Senn, G. Oxyrrhis Nephroselmis und einige Flagellaten nebst Bemerkungen über deren System. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCVII. 1911. S. 605—672.

1906. Simons, E. B. A morphological study of Sargassum Filipendula. Bot. Gaz. Bd. XLIX. 1906. S. 161—182.

1911. Svedelius, N. Über den Generationswechsel bei Delesseria sanguinea. Svensk. Botanisk Tidskrift. Bd. V. 1911. S. 260—324.

1897. Swingle, W. F. Zur Kenntnis der Kern- und Zellteilung bei den Sphacelariaceen. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXX. 1897. S. 297—350.

1883. Schaarschmidt, J. Adatok a Synedra Ullna (Nietzsch) Ehrenb. Beiträge zur näheren Kenntnis der Teilung von Synedra Ullna. Magyar növenytani Lapok. Klausenburg. Bd. VII. 1883. S. 49—50.

1911. Schiller, J. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte und Physiologie des pflanzlichen Zellkerns. I. Die Kerne von Antithamnion plumula. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLIX. 1911. S. 267—306.

1899. Schmidle, W. Einiges über die Befruchtung, Keimung und Haarinsertion von Batrachospermum. Bot. Ztg. Bd. LVII. 1899. S. 125—135.

1879. Schmitz. Über den Bau der Zellen bei den Siphonocladiaceen. Sitzber. d. niederrhein. Ges. f. Natur- u. Heilkunde. Bonn 1879. S. 142—145.

1879. —— Über die Zellkerne der Thallophyten. Ebenda. 1879.

1880. —— Untersuchungen über die Struktur des Protoplasmas und der Zellkerne der Pflanzenzelle. Ebenda. 1880.

1882. —— Die Chromatophoren der Algen. Bonn 1882.

1883. —— Untersuchungen über die Befruchtung der Florideen. Sitzber. d. Akad. d. Wiss. zu Berlin. 1883. S. 215—258.

1893. Schottländer, P. Beiträge zur Kenntnis des Zellkerns und der Sexualorgane bei Cryptogamen. Cohns Beitr. zur Biol. d. Pflanzen. Bd. VI. 1893. S. 267—304.

1888. Schütt, F. Über die Diatomeengattung Chaetoceras. Bot. Ztg. 1888. S. 161 bis 170; 177—184.

1896. —— Peridiniales. Engler-Prantl, Die natürl. Pflanzenfamilien. 1896. I. 1.

1878. Strasburger, E. Über Befruchtung und Zellteilung. Jena 1878.
1880. —— Zellbildung und Zellteilung. 3. Aufl. 1880.
1882. —— Über den Teilungsvorgang der Zellkerne und das Verhältnis der Kernteilung zur Zellteilung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXI. 1882.
1884. —— Die Controversen der indirekten Kernteilung. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XXIII. 1884.
1888. —— Über Kern- und Zellteilung im Pflanzenreich. Histolog. Beiträge. I. 1888.
1892. —— Schwärmsporen, Gameten, pflanzliche Spermatozoiden und das Wesen der Befruchtung. Hist. Beitr. IV. 1892. S. 52—56.
1895. —— Karyokinetische Probleme. Jahresber. f. wiss. Bot. Bd. XXVIII. 1895.
1897. —— Über Cytoplasmastrukturen, Kern- und Zellteilung. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXX. 1897.
1897. —— Kernteilung und Befruchtung bei Fucus. Ebenda. Bd. XXX. 1897. S. 351—374.
1900. —— Über Reduktionsteilung, Spindelbildung usw. im Pflanzenreich. Histol. Beitr. VI. 1900.
1902. —— Das botanische Praktikum. 4. Aufl. 1902. Jena.
1907. —— Die Ontogenie der Zelle seit 1875. Progressus rei botanicae. Bd. I. 1907. S. 1—138.
1907. —— Einiges über Characeen und Amitose. Wiesner Festschrift. 1907. S. 24—47.
1912. Szécsi. Über einige moderne Romanowski-Blutfärbungen. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 23. 1912.
1882. Tangl, Fr. Über die Teilung der Kerne in Spirogyrazellen. Sitzber. d. k. Akad. d. Wiss. Wien. Bd. LXXXV. 1882. S. 268—291.
1880. Treub. Notice sur les noyaux des cellules végétales. Arch. de biologie. T. I. 1880. p. 393—404.
1907. Tröndle, A. Über die Kopulation und Keimung von Spirogyra. Bot. Ztg. Bd. LXV. 1907. S. 187—216.
1911. —— Über die Reduktionsteilung in den Zygoten von Spirogyra und die Bedeutung der Synapsis. Zeitschr. f. Botanik. Bd. III. 1911. S. 593—612.
1912. —— Der Nucleolus von Spirogyra und die Chromosomen höherer Pflanzen. Ebenda. Bd. IV. 1912. S. 721—743.
1887. Wille, N. Algologische Mitteilungen. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XVIII. 1887. S. 425—518.
1894. —— Über die Befruchtung von Nemalion multifidum. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XII. 1894. S. 57—60.
1904. Williams, L. Studies in the Dictyotaceae. Annals of Botany. Vol. XVIII. 1904. p. 141—160; 183—204.
1898. Wisselingh, C. van. Über den Nucleolus von Spirogyra. Ein Beitrag zur Kenntnis der Karyokinese. Bot. Ztg. Bd. LVI. 1898. S. 195—226.
1900. —— Über die Kernteilung bei Spirogyra. Flora. Bd. LXXXVII. 1900. S. 355—377.
1900. —— Über mehrkernige Spirogyrazellen. Ebenda. Bd. LXXXVII. 1900. S. 378—386.
1902. —— Untersuchungen über Spirogyra. Bot. Ztg. Bd. LX. 1902. S. 115—137.
1903. —— Über abnormale Kernteilung. Ebenda. Bd. LXI. 1903. S. 201—248.

1904. Wisselingh, C. van. Antwort auf die kritischen Bemerkungen von A. Nathanson. Bot. Ztg. Bd. XXVI. 1904. S. 20—21.
1908. —— Über die Karyokinese bei Oedogonium. Beih. z. bot. Zentralbl. Bd. XXIII. 1908. S. 137—156.
1910. —— Over de kernstructur en de karyokinese by Closterium Ehrenbergii. Versl. kon. Akad. Wet. Amsterdam. 1910. S. 170—181.
1904. Wolfe, J. J. Cytological studies on Nemalion. Annals of Botany. Vol. XVIII. 1904. p. 607—630.
1907. 1907. Yamanouchi, S. The Lifehistory of Polysiphonia. Bot. Gaz. Bd. XLII. 1907. S. 401—449.
1909. —— Mitosis in Fucus. Ibidem. Vol. XLVII. 1909. p. 173—197.
1909. —— Cytology of Cutleria and Aglaozonia. A preliminary paper. Contrib. from the Hull Botanical Laboratory. Bd. XLVIII. 1909. p. 380—386.
1881. Zacharias, E. Über die chemische Beschaffenheit des Zellkernes. Bot. Ztg. 1881. S. 169.
1882. —— Über den Zellkern. Ebenda. 1882. S. 611.
1885. —— Über den Nucleolus. Ebenda. 1885. S. 257.
1888. —— Erwiderung. Bot. Ztg. 1888. S. 90.
1888. —— Über Strasburgers Schrift: Kern- und Zellzeilung im Pflanzenreich. Jena 1888. Bot. Ztg. Bd. XLVI. 1888. S. 437—450; 453—460.
1909. —— Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern. Progressus rei botanicae. 1909.
1904. Zederbauer. Geschlechtliche und ungeschlechtliche Fortpflanzung von Ceratium Hirundinella. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XXII. 1904. S. 1—8.
1896. Zimmermann, A. Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkerns. Jena, G. Fischer, 1896.

Materialien zur Kenntnis der quantitativen Wandlungen des Chromatins in den Geschlechtszellen von Ascaris.

Von

Dr. **Kiyoshi Katsuki.**

(Aus dem Zoologischen Institut München.)

Mit Tafel I—III.

Inhalt.

A. Einleitung.

Das bloße morphologische Studium der Geschlechtszellen zeigt, daß ihre Kerne und Chromosomen während eines Lebenscyklus von der Urgeschlechtszelle bis zur vollzogenen Befruchtung großen quantitativen Schwankungen unterworfen sind. Die vorliegende Arbeit setzte es sich zur Aufgabe, diese Verhältnisse zahlenmäßig und unter Berücksichtigung

der natürlichen Variabilität beider Geschlechter an einem geeigneten Objekt *Ascaris megalocephala* möglichst genau zu bestimmen. Die gewonnenen Daten können dann einmal späterhin als Ausgangspunkt dienen, um die Chromatinwandlungen mit den gleichzeitig verlaufenden Stoffwechselprozessen der Zelle in Beziehung zu setzen.

Im folgenden sei zunächst nur das rechnerisch gewonnene Material vorgelegt, ohne daß weitergehende Schlußfolgerungen daran geknüpft würden.

Die Untersuchungen wurden im zoologischen Institut in München auf Veranlassung von Herrn Geheimrat R. Hertwig und Herrn Professor R. Goldschmidt ausgeführt, denen ich für alle Hilfe hiermit danke.

B. Spezieller Teil.

1. Material und Methode.

Als Material zu der vorliegenden Untersuchung dienten Ovarien und Hoden von *Ascaris megalocephala*.

Als Fixierungsflüssigkeit wurde fast ausschließlich Carnoysche Flüssigkeit verwandt. Eingebettet wurde in Paraffin und geschnitten von 5—15 μ, je nach der Größe des Materials in jedem Stadium. Die Schnitte wurden aufgeklebt, nachdem der Objektträger mit einer möglichst dünnen Schicht Eiweißglyzerin bestrichen war. Dann verwandte ich Eisenhämatoxylin nach Heidenhain zur Färbung der Schnitte, die in Kanadabalsam eingeschlossen wurden, um zu Dauerpräparaten verarbeitet zu werden.

Für meine Untersuchungen habe ich folgende Stadien gewählt:

I. Chromosomen.
  A. Chromosomen während der Reifeteilungen (Ovocyten).
    1. Chromosomen bei der ersten Richtungskörperbildung.
    2. Chromosomen bei der zweiten Richtungskörperbildung.
  B. Chromosomen während der Reifeteilungen (Spermatocyten).
    1. Chromosomen bei der ersten Teilung.
    2. Chromosomen bei der zweiten Teilung.
  C. Chromosomen während der Ovogonien- bzw. Spermatogonienteilungen.
    1. Chromosomen während der Prophase (vor der Teilung).
    2. Chromosomen während der Telophase (nach der Teilung).
  D. Chromosomen während der Furchungsteilung (vor der Äquatorialplattenbildung).

II. Kerne.

A. Kerne bei der ersten Furchungsteilung.

1. Vorkerne, direkt vor der Chromosomenbildung zur ersten Furchungsteilung.
2. Die Tochterkerne der ersten Furchungsteilung.

B. Kerne während der Ovogonien- bzw. Spermatogonienteilungen.

1. Die Kerne der Ovogonien vor der Teilung.
2. Die Kerne der Ovogonien nach der Teilung.
3. Die Kerne der Spermatogonien vor der Teilung.
4. Die Kerne der Spermatogonien nach der Teilung.

C. Kerne der Ovocyten und Spermatocyten während der Wachstumsperiode.

1. Die Kerne am Anfang der Wachstumsperiode der Ovocyten.
2. Die Kerne aus der Mitte der Wachstumsperiode der Ovocyten.
3. Die Kerne am Ende der Wachstumsperiode der Ovocyten.
4. Die Kerne am Anfang der Wachstumsperiode der Spermatocyten.
5. Die Kerne aus der Mitte der Wachstumsperiode der Spermatocyten.
6. Die Kerne am Ende der Wachstumsperiode der Spermatocyten.

Die Chromosomen und die Kerne der einzelnen Stadien wurden der Länge, Breite und Dicke nach gemessen. Da es sich nur um Relationszahlen handelt, wurde auf objektive Messungen verzichtet. Vielmehr wurden alle Stadien unter identischen Bedingungen gezeichnet und dann auf dem Papier möglichst genau gemessen. Die folgenden Zahlen sind daher in Millimetern dieser Messungen ausgedrückt. Für die Chromosomenmessung brauchte ich das Zeisssche Kompensationsocular 12 und homogene Immersion $\frac{2\ \text{mm}}{1.30\ \text{n. Ap}}$; für die Kernmessung das Zeisssche Kompensationsocular 6 und homogene Immersion $\frac{2\ \text{mm}}{1.30\ \text{n. Ap.}}$

Das Volumen der Chromosomen bei der ersten und zweiten Richtungskörperbildung berechnete ich als Ellipsoid nach der Formel:

$$\frac{4}{3}\pi abc \quad \text{oder} \quad \frac{4}{3}\pi\frac{\text{Länge}}{2}\left(\frac{\text{Breite}}{2}\right)^2.$$

Das Volumen der Chromosomen bei der ersten und zweiten Teilung während der Spermatocytenteilungen konnte ich infolge der birnförmigen Gestalt nicht als Ellipsoid, Paraboloid oder Hyperboloid berechnen.

Deshalb teilte ich die Figur in ein Paraboloid und in ein halbes Ellipsoid, berechnete jedes für sich und addierte dann die erhaltenen Größen. Auf diese Weise erhielt ich einen der Wirklichkeit nahe kommenden Wert.

Die Paraboloidformel lautet:

$$\frac{1}{2}\pi a^2 b \quad \text{oder} \quad \frac{1}{2}\pi \frac{\text{Länge}}{2}\left(\frac{\text{Breite}}{2}\right)^2,$$

die Formel für das halbe Ellipsoid $\dfrac{\frac{4}{3}\pi a b c}{2}$ also zusammen

$$\frac{1}{2}\pi \frac{2\,\frac{\text{Länge}}{2}}{3}\left(\frac{\text{Breite}}{2}\right)^2 + \frac{1}{2}\,\frac{4}{3}\,\pi\,\frac{\frac{\text{Länge}}{2}}{3}\left(\frac{\text{Breite}}{2}\right)^2.$$

Die Berechnung der Chromosomen während der Ovogonien bzw. Spermatogonienteilungen und der ersten Furchungsteilung führte ich in der Weise aus, daß ich Cylinderform annahm.

Die Cylinderformel lautet: $\pi r^2 h$

$$\text{oder} \quad \pi \text{ Länge}\left(\frac{\text{Breite}}{2}\right)^2.$$

Zur Feststellung des Kernvolumens bediente ich mich, da es sich bei den Kernen um Kugeln handelt, folgender Formel:

$$\frac{4}{3}\pi r^3 \quad \text{oder} \quad \frac{4}{3}\pi\left(\frac{\text{Durchmesser}}{2}\right)^3.$$

Zur Untersuchung der Variabilität wurden folgende Formeln für Mittelwert m, und den Variationskoeffizienten benutzt.

$$\text{Mittelwert} = \frac{\Sigma}{n}$$

n = die Summe der Häufigkeitszahl

Σ = die Summe der Messungszahl

$$\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma P a^2}{n}}$$

a = die Differenz zwischen der Messungszahl und dem Mittelwert

P = Häufigkeitszahl

Σ = das Summenzeichen

n = die Summe der Häufigkeitszahlen.

$$\text{Variationskoeffizient} = \frac{100}{\text{Mittelwert}}.$$

2. Die Größe der Chromosomen.

a) Wandlungen der Chromatinquantität während des Chromosomencyklus.

Um die Wandlungen der Chromatinquantität während des Chromosomencyklus zu erläutern, gebe ich eine Zusammenstellung der aus meinen Messungen gewonnenen Zahlen der hieraus berechneten Volumina der Chromosomen. (Die einzelnen Zahlen dieser wie bei den übrigen Messungen sind als Anhang dieser Arbeit beigegeben.) Länge, Breite und Dicke der Chromosomen, aus denen dann die Volumina berechnet wurden, sind Mittelwerte aus einer großen Zahl von Messungen, nämlich diese Zahl der Messungen betrug:

50 in den Prophasen, während der Ovogonien- bzw. Spermatogonienteilungen,
100 in der Telophase, während obiger Zeit,
200 bei der ersten und zweiten Reifeteilung,
60 während der ersten Furchungsteilung.

Die Einheit der Messungszahl ist, wie schon gesagt, Millimeter der Zeichnung.

Mittelwert.

Die Chromosomen während der Reifeteilungen:

(Ovocyten)

Bei der ersten Richtungskörperbildung

Länge	3,82
Breite und Dicke	2,47.

Bei der zweiten Richtungskörperbildung

Länge	3,75
Breite und Dicke	2,67.

Die Chromosomen während der Reifeteilungen:

(Spermatocyten)

Bei der ersten Teilung

Länge	4,56
Breite und Dicke	2,71.

Bei der zweiten Teilung

Länge	4,69
Breite und Dicke	2,73.

Die Chromosomen während der Ovogonien- bzw. Spermatogonienteilungen:

Während der Prophase (vor der Teilung):

Ovogonien

Länge	52,64
Breite und Dicke	1,27.

Spermatogonien

Länge	41,92
Breite und Dicke	1,13.

Während der Telophase nach der Teilung:

Ovogonien

Länge	29,89
Breite und Dicke	1,11.

Spermatogonien

Länge	25,73
Breite und Dicke	0,95.

Während der ersten Furchungsteilung (vor der Äquatorialplattenbildung):

Länge	87,33
Breite und Dicke	2,21.

Volumen.

Die einzelnen Chromosomen während der Reifeteilungen (Ovocytenteilungen):

Bei der ersten Richtungskörperbildung (d. h. eines der vier Tetradenelemente)	12,2579 = 12,26
Bei der zweiten Richtungskörperbildung	14,0132 = 14,01.

Die einzelnen Chromosomen während der Reifeteilungen (Spermatocytenteilungen):

Bei der ersten Teilung (wie oben)	14,5703 = 14,57
Bei der zweiten Teilung	15,2815 = 15,28.

Die Volumina des gesamten Chromosomenbestandes während der Ovogonien- bzw. Spermatogonienteilungen:

Während der Prophase:	
Ovogonien	65,5867 = 65,59
Spermatogonien	41,5004 = 41,50.
Während der Telophase:	
Ovogonien	28,6227 = 28,62
Spermatogonien	18,0273 = 18.03.
Die gesamten Chromosomen während der ersten Furchungsteilung (vor der Äquatorialplattenbildung)	334,5992 = 334,60.

Wenn ich die vorhergehenden Zahlen der Chromatinvolumina der Reihe nach ordne, ergibt sich:

	männlich	weiblich
Prophase der Vermehrungsteilungen	41,5	65,6
Telophase der Vermehrungsteilungen	18,0	28,6
1. Reifeteilung (Äquatorialplatte)	106,0	98,0
2. » »	61,2	56,0
Vor der 1. Furchungsteilung	334,6	

Diese Tabellen zeigen, daß sich nicht nur im Laufe eines Zellcyklus die Form der Chromosomen außerordentlich verändert, sondern auch daß die Volumina großen Schwankungen unterliegen. Während der Vermehrungsteilungen sind typischer Weise die weiblichen Elemente voluminöser als die männlichen. Diese Differenz wird sichtlich im Laufe der Wachstumsperiode wieder ausgeglichen, so daß die Chromosomen in beiden Geschlechtern mit den nahezu gleichen Volumina in die Reifeteilungen eintreten. Eher sind die Chromosomen des Männchens größer als die des Weibchens. Dies Volumen ist aber etwas mehr als doppelt so groß als in den Vermehrungsteilungen (wenn wir für sie das Mittel zwischen Pro- und Telophase einsetzen). In der Wachstumsperiode hat sich somit das Chromatin der Eier etwas verdoppelt; das der Samenzellen fast vervierfacht. Eine weitere große Chromatinzunahme geht aber in den Vorkernen nach der Befruchtung vor sich. Denn die Chromosomen der ersten Furchungsteilung zeigen das dreifache Volumen, wie die der reifen Geschlechtszellen.

b) Variabilität der Chromosomen eines Stadiums und Beziehungen dieser Variabilität zu spezifischen Größendifferenzen der Chromosomen.

Um den Wert derartiger quantitativer Untersuchungen an Chromosomen beurteilen zu können, ist es nötig, auch die Variabilität der Chromosomen zu berücksichtigen. Deshalb sind im folgenden die Häufigkeitszahlen, Variationsreihen und Kurven der Chromosomenmasse für die einzelnen Stadien wiedergegeben. Diese Kurven haben aber noch eine andre Bedeutung. Die Messungen wurden meist an allen vier Chromosomen einer Zelle vorgenommen. In der Regel sieht man bei *Ascaris* nicht viel von einer specifischen Größendifferenz der Chromosomen, wenn auch Angaben in dieser Richtung existieren. Sollte eine solche aber doch vorhanden sein, dann muß sie sich in der Kurve ausdrücken: Die Kurve muß mehr oder minder viergipflig erscheinen mit gleichmäßiger Frequenz der Gipfelbezirke. Die Aufzählungsreihen für die einzelnen Größen sind nun die folgenden:

Die Länge der Chromosomen während der Reifeteilungen.

Ovocyten				Spermatocyten			
bei der ersten Richtungskörperbildung		bei der zweit. Richtungskörperbildung		bei der ersten Teilung		bei der zweiten Teilung	
I	II	I	II	I	II	I	II
3,1	3	3,0	10	3,6	1	4,0	2
3,2	4	3,1	7	3,7	2	4,1	4
3,3	16	3,2	11	3,8	—	4,2	5
3,4	10	3,3	8	3,9	3	4,3	5
3,5	36	3,4	9	4,0	19	4,4	13
3,6	27	3,5	26	4,1	10	4,5	16
3,7	68	3,6	11	4,2	33	4,6	36
3,8	47	3,7	22	4,3	34	4,7	23
3,9	44	3,8	10	4,4	27	4,8	25
4,0	74	3,9	13	4,5	56	4,9	26
4,1	11	4,0	27	4,6	62	5,0	31
4,2	17	4,1	7	4,7	31	5,1	8
4,3	24	4,2	15	4,8	53	5,2	6
4,4	8	4,3	6	4,9	20		
4,5	7	4,4	6	5,0	40		
4,6	1	4,5	5	5,1	6		
4,7	2	4,6	—	5,2	3		
4,8	—	4,7	3				
4,9	—	4,8	2				
5,0	1	4,9	1				
		5,0	1				

während der Ovogonien- bzw. Spermatogonienteilungen								während der ersten Furchungsteilung	
während der Prophase				während der Telophase				vor der Äquatorialplattenbildung	
Ovogonien		Spermatogonien		Ovogonien		Spermatogonien			
I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
43	1	33	2	21	1	20	2	82	1
44	1	34	5	22	1	21	4	83	2
45	—	35	2	23	1	22	8	84	2
46	2	36	3	24	2	23	4	85	4
47	1	37	5	25	2	24	8	86	3
48	2	38	5	26	2	25	6	87	4
49	4	39	6	27	7	26	6	88	4
50	4	40	2	28	8	27	4	89	6
51	2	41	2	29	8	28	3	90	8
52	5	42	2	30	5	29	3	91	5
53	8	43	6	31	7	30	3	92	4
54	3	44	4	32	5	31	6	93	3
55	3	45	2	33	1	32	1	94	2
56	2	46	1	34	3	33	2	95	4
57	1	47	2	35	3			96	3
58	2	48	1	36	—			97	2
59	1			37	3			98	1
60	3			38	1			99	1
61	1							100	1
62	1								
63	3								

Die Breite und Dicke der Chromosomen während der Reifeteilungen.

Ovocyten				Spermatocyten			
bei der ersten Richtungskörperbildung		bei der zweit. Richtungskörperbildung		bei der ersten Teilung		bei der zweiten Teilung	
I	II	I	II	I	II	I	II
2,0	4	2,0	2	2,0	1	2,2	2
2,1	15	2,1	1	2,1	—	2,3	7
2,2	32	2,2	5	2,2	1	2,4	9
2,3	61	2,3	14	2,3	10	2,5	17
2,4	46	2,4	16	2,4	28	2,6	35
2,5	71	2,5	26	2,5	56	2,7	35
2,6	55	2,6	23	2,6	49	2,8	58
2,7	32	2,7	15	2,7	78	2,9	17
2,8	41	2,8	27	2,8	102	3,0	12
2,9	23	2,9	25	2,9	43	3,1	3
3,0	12	3,0	27	3,0	31	3,2	5
3,1	1	3,1	2	3,1	1		
3,2	4	3,2	9				
3,3	3	3,3	2				
		3,4	3				
		3,5	3				

Die Breite und Dicke der Chromosomen.

während der Ovogonien bezw. Spermatogonienteilungen.								während der ersten Furchungsteilung	
während der Prophase				während der Telophase				während der Äquatorialplattenbildung	
Ovogonien		Spermatogonien		Ovogonien		Spermatogonien			
I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
1,4	26	1,0	7	0,8	1	0,7	2	1,8	1
1,5	16	1,1	21	0,9	7	0,8	10	1,9	3
1,6	5	1,2	14	1,0	11	0,9	14	2,0	5
1,7	3	1,3	8	1,1	15	1,0	27	2,1	5
				1,2	21	1,1	7	2,2	16
				1,3	5			2,3	13
								2,4	10
								2,5	6
								2,6	1

I = Messungszahl,
II = Häufigkeitszahl.

Es zeigt sich also eine beträchtliche Variabilität im quantitativen Verhalten der Chromosomen.

Das Maß der Variabilität in den einzelnen Stadien ergibt sich, wenn wir die Standardabweichung σ berechnen. Dieselbe beträgt für:

die Chromosomen während der Reifeteilungen (Ovocytenteilungen)

bei der ersten Richtungskörperbildung

Länge 0,299685
Breite und Dicke 0,257181

bei der zweiten Richtungskörperbildung

Länge 0,431045
Breite und Dicke 0,302355.

Die Chromosomen während der Reifeteilungen (Spermatocytenteilungen)

bei der ersten Teilung

Länge 0,300374
Breite und Dicke 0,182392

bei der zweiten Teilung

Länge 0,260908
Breite und Dicke 0,189082.

Die Chromosomen während der Ovogonien- bzw. Spermatogonienteilungen:

während der Prophase

Ovogonien

Länge	4,916848
Breite und Dicke	0,087841

Spermatogonien

Länge	4,1895277
Breite und Dicke	0,095084

während der Telophase

Ovogonien

Länge	3,4556606
Breite und Dicke	0,0918087

Spermatogonien

Länge	3,4892215
Breite und Dicke	0,1007058

während der ersten Furchungsteilung (vor der Äquatorialplattenbildung)

Länge	5,0991
Breite und Dicke	1,7616.

Ein andres Maß für die Variabilität der Chromosomen ist der Variationskoeffizient v, er beträgt für:

Die Chromosomen während der Reifeteilungen (Ovocytenteilungen)

bei der ersten Richtungskörperbildung

Länge	7,8506 = 7,85
Breite und Dicke	10,3964 = 10,40

bei der zweiten Richtungskörperbildung

Länge	11,4965 = 11,50
Breite und Dicke	11,3078 = 11,31.

Die Chromosomen während der Reifeteilungen (Spermatocytenteilungen):

bei der ersten Teilung

Länge	6,5852 = 6,59
Breite und Dicke	6,7403 = 6,74

bei der zweiten Teilung

Länge	5,5648 = 5,57
Breite und Dicke	6,9156 = 6,92.

Die Chromosomen während der Ovogonien- bzw. Spermatogonienteilungen:

während der Prophase (vor der Teilung)

Ovogonien

Länge	9,3405 = 9,34
Breite und Dicke	6,9403 = 6,94

Spermatogonien

Länge	9,9953 = 10,00
Breite und Dicke	8,4669 = 8,47

während der Telophase (nach der Teilung)

Ovogonien

Länge	11,5615 = 11,56
Breite und Dicke	8,3000 = 8,30

Spermatogonien

Länge	13,5609 = 13,56
Breite und Dicke	10,6624 = 10,66

während der ersten Furchungsteilung (vor der Äquatorialplattenbildung)

Länge	5,8523 = 5,85
Breite und Dicke	7,7910 = 7,79.

Aus diesen Zahlen ergibt sich nun, daß die Chromosomenform in jedem Stadium einer beträchtlichen Variabilität unterworfen ist. Bemerkenswert erscheint, daß die Variabilität während der Reifeteilungen eine viel geringere ist, als in den andern Stadien. Die Ursache kann allerdings eine sehr einfache sein: In diesem Stadium sind Chromosomen kurz und kompakt und daher Größenschwankungen viel schwerer durch Messung festzustellen als bei den langen Fäden der andern Stadien.

Die Variabilität, welche ich hier nachgewiesen habe, bezieht sich auf die Form der Chromosomen, nicht auf ihr Volumen, da in diesen Tabellen nur Zahlen in bezug auf Länge, Dicke und Breite berücksichtigt sind. Wie steht es nun mit den Volumina? Es wurde oben mitgeteilt,

daß ich die Volumina der Chromosomen als Ellipsoid, Paraboloid und Ellipsoid und Cylinderform je nach dem Stadium gerechnet habe. Die Ellipsoidformel lautet:

$$\frac{4}{3}\pi a b c.$$

Wenn ich das Volumen mit X bezeichne, erhalte ich

$$X = \frac{4}{3}\pi a b c$$

oder

$$X = \frac{\pi}{6}\,\text{Länge}\cdot\text{Breite}^2,$$

aber $\frac{\pi}{6}$ ist ein konstanter Wert,

deshalb $X \infty \text{Länge}\cdot\text{Breite}^2$.

Diese Formel sagt, daß das Volumen sich verändert im Verhältnis zu dem Produkt aus Länge · Breite². Man muß also nur die Variabilität des Produkts der Länge und Breite berechnen, um eine Variabilität der Volumina der Chromosomen zu erkennen.

Beim Paraboloid und Ellipsoid ist das gleiche der Fall, nämlich

$$\frac{1}{2}\pi\,\frac{2\,\frac{\text{Länge}}{2}}{3}\left(\frac{\text{Breite}}{2}\right)^2 + \frac{1}{2}\,\frac{4}{3}\,\pi\,\frac{\frac{\text{Länge}}{2}}{3}\left(\frac{\text{Breite}}{2}\right)^2$$

$$X = \frac{5\,\pi}{72}\cdot\text{Länge}\cdot\text{Breite}^2$$

$$X \infty \text{Länge}\cdot\text{Breite}^2,$$

beim Cylinder ebenso:

$$\pi r^2 h$$

$$X = \pi\,\text{Länge}\left(\frac{\text{Breite}}{2}\right)^2$$

$$X \infty \text{Länge}\cdot\text{Breite}^2.$$

Deshalb habe ich von allen meinen Messungszahlen noch einmal das Produkt aus Länge und Breite berechnet. Aus diesen Zahlen ergibt sich dann die Variation im Volumen des Chromatins in verschiedenen Stadien.

Die folgenden Tabellen zeigen dies:

während der Reifeteilungen:

Ovocyten				Spermatocyten			
bei der ersten Richtungs-körperbildung		bei der zweit. Richtungs-körperbildung		bei der ersten Teilung		bei der zweiten Teilung	
I	II	I	II	I	II	I	II
13	1	14	1	16	1	17	1
14	3	15	2	—	—	18	—
15	6	16	1	19	1	19	1
16	10	17	4	20	—	20	2
17	13	18	4	21	3	21	2
18	19	19	9	22	2	22	2
19	14	20	9	23	7	23	2
20	34	21	11	24	6	24	5
21	32	22	14	25	13	25	1
22	24	23	9	26	13	26	8
23	38	24	12	27	17	27	—
24	21	25	10	28	17	28	8
25	21	26	8	29	25	29	12
26	21	27	13	30	20	30	6
27	23	28	4	31	33	31	8
28	13	29	6	32	18	32	13
29	14	30	6	33	27	33	13
30	12	31	15	34	26	34	12
31	26	32	5	35	27	35	12
32	2	33	8	36	22	36	19
33	9	34	12	37	12	37	8
34	11	35	10	38	37	38	18
35	8	36	4	39	18	39	14
36	6	37	5	40	15	40	4
37	3	38	4	41	6	41	9
38	4	39	2	42	12	42	3
39	2	40	3	43	8	43	3
40	—	41	1	44	2	44	3
41	1	42	—	45	8	45	4
42	1	43	3	46	2	46	2
—	—	44	1			47	1
47	1	—	—			48	—
48	2	48	1			49	1
		49	1			50	1
		50	—			51	1
		51	1				

während der Ovogonien bezw. Spermatogonienteilungen								während der ersten Furchungsteilung	
während der Prophase				während der Telophase				vor der Äquatorialplattenbildung	
Ovogonien		Spermatogonien		Ovogonien		Spermatogonien			
I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
62	1	33	1	18	1	11	2	29	1
—	—	34	1	19	—	12	—	30	—
67	1	35	1	20	1	13	2	31	1
68	—	36	1	21	—	14	1	32	—
69	1	—	—	22	2	15	1	33	1
70	2	40	2	23	2	16	—	34	1
71	—	41	1	24	2	17	—	35	3
72	2	42	—	25	4	18	—	36	—
73	—	43	2	26	—	19	5	37	1
74	1	44	1	27	3	20	5	38	3
75	3	45	3	28	2	21	5	39	2
76	4	46	2	29	2	22	4	40	3
77	—	47	1	30	—	23	3	41	3
78	4	48	1	31	1	24	6	42	2
79	1	49	1	32	3	25	5	43	2
80	1	50	2	33	1	26	2	44	4
81	2	51	2	34	3	27	8	45	2
82	1	52	3	35	1	28	3	46	2
83	1	53	4	36	2	29	4	47	2
84	3	54	2	37	—	30	1	48	5
85	—	55	—	38	4	31	2	49	4
86	2	56	2	39	4	32	—	50	3
87	1	57	—	40	2	—	—	51	4
88	2	58	3	41	1	37	1	52	3
89	—	59	2	42	4			53	5
90	1	60	—	43	2			—	—
91	—	61	3	44	—			59	1
92	1	62	2	45	3			60	1
93	3	63	—	46	1			—	—
94	—	64	2	47	1			63	1
95	1	—	—	48	—				
96	—	68	4	49	3				
97	—	—	—	—	—				
98	1	79	1	54	1				
99	1			55	1				
100	2			—	—				
101	1			59	2				
102	2			—	—				
103	1			62	1				
104	1								
—	—								
119	1								
—	—								
130	1								

I = Länge × Breite². — II = Häufigkeitszahl.

Wir erkennen daraus, daß die Volumina der Chromosomen eines Stadiums ebenso wie die Formen variabel sind und diese Variabilität in den verschiedensten Stadien nicht immer gleich ist. Diese Variabilität der Volumina ist nicht ganz gleich der Variabilität der Chromosomenformen, sondern ist ihr proportional. Endlich kommt es darauf an, daß in den Formen oder Volumina der Chromosomen eines Stadiums eine Schwankung besteht, die in einzelnen Stadien ziemlich groß ist.

Es fragt sich nun, ob wir Ursache haben, die Richtigkeit der gewonnenen Resultate anzuzweifeln. Wenn diese Resultate nicht richtig wären, dann würde der Grund hierfür in der Untersuchungsmethode liegen. Wenn ich auf die Methode der Untersuchung zurückblicke, so war diese meines Erachtens vollständig richtig, weil ich die Behandlung des Materials (Fixieren, Einbetten, Schneiden, Aufkleben, Färben und Einschließen) ebenso das Zeichnen und Messen der Chromosomen in möglichst identischer Weise durchführte. Da es sich um Relation handelt, scheiden die wohl immer gleichen Fehler der Methoden aus.

c) Quantitative Verteilung des Chromatins.

Wir wollen nun die Zahlen, welche wir einerseits für Länge und Breite der Chromosomen, anderseits für ihre Volumina gefunden haben, noch von einem andern Gesichtspunkte aus betrachten, indem wir Mutter- und Tochterchromosomen eines und desselben Stadiums untereinander vergleichen.

Die Länge der Chromosomen während der Reifeteilungen (Ovocyten):

während der ersten Richtungskörperbildung

	I	II	III	IV	Durchschnitt
die vier Chromosomen, welche in den Eiern bleiben	3,87	3,78	3,82	3,80	3,82
die vier Chromosomen, welche später in den ersten Richtungskörper gehen	3,78	3,83	3,81	3,81	3,81

während der zweiten Richtungskörperbildung

	I	II	Durchschnitt
die zwei Chromosomen, welche in den Eiern bleiben	3,72	3,77	3,74
die zwei Chromosomen, welche später in den zweiten Richtungskörper gehen	3,76	3,76	3,76.

Die Länge der Chromosomen während der Reifeteilungen (Spermatocyten):

bei der ersten Teilung

	I	II	III	IV	Durchschnitt
A	4,57	4,54	4,57	4,52	4,56
A¹	4,54	4,57	4,55	4,59	4,56

bei der zweiten Teilung

	I	II	Durchschnitt
A	4,69	4,66	4,68
A¹	4,67	4,72	4,69.

Die Länge der Chromosomen während der Ovogonien- bzw. Spermatogonienteilungen (während der Telophase):

	I	II	Durchschnitt
Ovogonien	29,84	29,94	29,89
Spermatogonien	25,99	25,49	25,73.

Die Breite und Dicke der Chromosomen während der Reifeteilungen (Ovocyten):

bei der ersten Richtungskörperbildung

	I	II	III	IV	Durchschnitt
die vier Chromosomen, welche in den Eiern bleiben	2,51	2,44	2,45	2,51	2,48
die vier Chromosomen, welche später in den ersten Richtungskörper gehen	2,47	2,44	2,46	2,58	2,49

bei der zweiten Richtungskörperbildung

	I	II	Durchschnitt
die zwei Chromosomen, welche in den Eiern bleiben	2,67	2,69	2,68
die zwei Chromosomen, welche später in den zweiten Richtungskörper gehen	2,66	2,65	2,66.

Die Breite und Dicke der Chromosomen während der Reifeteilungen (Spermatogonien):

bei der ersten Teilung

	I	II	III	IV	Durchschnitt
A	2,71	2,71	2,70	2,76	2,72
A[1]	2,71	2,69	2,68	2,60	2,69

bei der zweiten Teilung

	I	II	Durchschnitt
A	2,75	2,76	2,76
A[1]	2,71	2,70	2,71.

Die Breite und Dicke der Chromosomen während der Ovogonien- bzw. Spermatogonienteilungen (während der Telophase):

	A	A[1]	Durchschnitt
Ovogonien	1,106	1,106	1,106
Spermatogonien	0,95	0,94	0,95.

Volumen.

Die Chromosomen während der Reifeteilungen:

(Ovocyten).

Während der ersten Richtungskörperbildung:

Chromosomen, welche in den Eiern bleiben

I	II	III	IV	Summe I—IV
12,77	11,78	12,01	12,54	49,10

Chromosomen, welche später in den ersten Richtungskörper gehen

I	II	III	IV	Summe I—IV
11,03	11,93	12,08	12,77	47,81

Während der zweiten Richtungskörperbildung:

Chromosomen, welche in den Eiern bleiben

I	II	I+II
13,88	14,25	28,13

Chromosomen, welche später in den zweiten Richtungskörper gehen

I	II	I + II
13,90	13,78	27,68

(Spermatocyten).

Während der ersten Teilung

	I	II	III	IV	S I—IV
A Teil	16,39	14,54	14,54	15,03	60,50
A¹ Teil	14,54	14,50	13,90	13,60	56,54

Während der zweiten Teilung

	I	II	I + II
A Teil	15,46	15,49	30,95
A¹ Teil	15,28	15,02	30,30.

Die Chromosomen während der Ovogonien- bzw. Spermatogonienteilungen (während der Telophase)

	A	A¹	A + A¹
Ovogonien	28,65	28,74	57,39
Spermatogonien	19,22	17,72	36,94.

Über die quantitative Verteilung des Chromatins bei den Teilungen habe ich schon teilweise berichtet. Nach den obigen Tabellen kann man nunmehr diese noch viel deutlicher bemerken. Wenn man die Chromosomengröße vor und nach den Teilungen der Ovogonien- bzw. Spermatogonienteilungen betrachtet, ergibt sich:

	vor den Teilungen	nach den Teilungen	
Ovogonien	65,5	28,65 28,75	57,4
Spermatogonien	41,5	19,22 17,72	36,9.

Die Größe der Mutterchromosomen ist etwas bedeutender als die bei den Tochterchromosomen zusammengenommen, aber die zwei Tochterkerne erhalten ziemlich genau gleiche Mengen des Chromatins. Ebenso teilt sich die Chromatinmenge in den Reifeteilungen genau in zwei Teile. Es ergeben also genaue Messungen dasselbe, was man auf Grund der morphologischen Befunde stets als selbstverständlich betrachtete, daß bei dem Teilungsprozesse die Chromatinmenge sich genau in zwei gleiche Teile teilt.

3. Die Größe der Kerne.

a) Wandlungen der Kernquantität während des Chromosomencyklus.

In diesem Paragraphen möchte ich die Untersuchung noch weiter auf die Wandlungen der Kernquantität während des Chromosomencyklus ausdehnen. Zu diesem Zweck habe ich die Durchmesser der Kerne durch Messung bestimmt und ihre Volumina berechnet, und zwar bei beiden Geschlechtern in verschiedenen Stadien. Ich habe dabei die Durchmesser von 120 Kernen gemessen und daraus den Durchschnitt berechnet. Der berechnete Mittelwert des Durchmessers beträgt:

1 Vorkern direkt vor der Chromosomenbildung der ersten Furchungsteilung	10,68
Für die Kerne der Ovogonien vor der Teilung	8,21
Für die Kerne der Ovogonien nach der Teilung	6,49
Für die Kerne der Spermatogonien vor der Teilung	7,13
Für die Kerne der Spermatogonien nach der Teilung	5,64
Für die Kerne am Anfang der Wachstumsperiode der Ovocyten	6,56
Für die Kerne am Anfang der Wachstumsperiode der Spermatocyten	5,71
Für die Kerne aus der Mitte, wie bestimmt, der Wachstumsperiode der Ovocyten	8,25
Für die Kerne der Mitte der Wachstumsperiode der Spermatocyten	7,25
Für die Kerne des Endes der Wachstumsperiode der Ovocyten	10,44
Für die Kerne des Endes der Wachstumsperiode der Spermatocyten	8,84
Für die Tochterkerne der ersten Furchungsteilung	8,38

Volumen.

Die einzelnen Vorkerne[1]) direkt vor der Chromosomenbildung zur ersten Furchungsteilung	= 637,9140	= 637,91
Die Tochterkerne der ersten Furchungsteilung	= 308,2164	= 308,22
Die Kerne der Ovogonien vor der Teilung	= 290,0293	= 290,03
Die Kerne der Ovogonien nach der Teilung	= 143,2629	= 143,26
Die Kerne der Spermatogonien vor der Teilung	= 191,0631	= 191,06
Die Kerne der Spermatogonien nach der Teilung	= 93,8870	= 93,89

[1]) Um einen für beide Kerne gültigen Mittelwert zu erhalten, habe ich Eikern und Samenkern addiert und durch 2 dividiert.

Die Kerne am Anfang der Wachstumsperiode der Ovocyten	= 147,6832	= 147,68
Die Kerne am Anfang der Wachstumsperiode der Spermatocyten	= 97,2728	= 97,27
Die Kerne aus der Mitte der Wachstumsperiode der Ovocyten	= 294,0133	= 294,01
Die Kerne aus der Mitte der Wachstumsperiode der Spermatocyten	= 199,5221	= 199,52
Die Kerne am Ende der Wachstumsperiode der Ovocyten	= 595,9984	= 596,00
Die Kerne am Ende der Wachstumsperiode der Spermatocyten	= 361,6071	= 361,61.

Wenn ich die vorhergehenden Zahlen der Volumina der Reihe nach ordne, ergibt sich:

	Ovogonien	Spermatogonien
vor der Teilung	290	191
nach der Teilung	143	94

	Ovocyten	Spermatocyten
Anfang (im Wachstum)	147	97
Mitte » »	294	199
Ende » »	595	362
Vorkern im befruchteten Ei	637	
Tochterkerne nach der ersten Furchungsteilung	308.	

Aus obigem ersehen wir:

1. Die Ovogonien sind größer als die Spermatogonien.

2. In der Wachstumsperiode ist das Wachstum der beiden ungefähr gleich.

3. Nach der Wachstumsperiode wird der Eikern nur wenig vergrößert, während der Samenkern im Ei doppelt so groß wird, als der Kern der Spermatocyten erster Ordnung am Schluß der Wachstumsperiode war.

b) Variabilität der Kerne eines Stadiums.

Wie ich es bereits bei der Untersuchung über die Chromosomengröße gemacht habe, so habe ich auch für die Durchmesser und die Volumina der Kerne auf den verschiedenen Entwicklungsstadien die Variabilität untersucht, den Variabilitätskoeffizienten berechnet und eine Kurve der Variabilität konstruiert. Wenn ich sie zeige, ergibt sich:

Die Kerne der Ovogonien und Spermatogonien.

Ovogonien				Spermatogonien			
vor der Teilung		nach der Teilung		vor der Teilung		nach der Teilung	
I	II	I	II	I	II	I	II
7,2	1	5,9	1	6,4	1	5,0	1
7,3	1	6,0	6	6,5	3	5,1	5
7,4	2	6,1	9	6,6	3	5,2	7
7,5	3	6,2	14	6,7	4	5,3	12
7,6	2	6,3	10	6,8	4	5,4	14
7,7	4	6,4	11	6,9	13	5,5	16
7,8	8	6,5	14	7,0	19	5,6	12
7,9	10	6,6	20	7,1	16	5,7	12
8,0	15	6,7	12	7,2	15	5,8	9
8,1	10	6,8	9	7,3	16	5,9	7
8,2	10	6,9	8	7,4	13	6,0	7
8,3	9	7,0	4	7,5	6	6,1	8
8,4	10	7,1	1	7,6	2	6,2	7
8,5	9	7,2	1	7,7	5	6,3	1
8,6	8					6,4	1
8,7	5					6.5	1
8,8	5						
8,9	4						
9,0	2						
9,1	1						
9,2	1						

Die Kerne der Ovocyten im Wachstum.

Anfang		Mitte		Ende	
I	II	I	II	I	II
5,8	1	7,6	2	9,5	1
5,9	2	7,7	5	9,6	2
6,0	4	7,8	5	9,7	5
6,1	7	7,9	10	9,8	5
6,2	5	8,0	11	9,9	7
6,3	8	8,1	10	10,0	5
6,4	11	8,2	19	10,1	6
6.5	19	8,3	15	10,2	8
6.6	17	8,4	11	10,3	10
6,7	14	8,5	12	10,4	16
6,8	10	8,6	5	10,5	15
6,9	12	8,7	5	10,6	7
7,0	7	8,8	5	10,7	8
7,1	3	8,9	3	10,8	8
		9,0	2	10,9	4
				11.0	5
				11,1	5
				11,2	3

Die Kerne der Spermatocyten im Wachstum.

Anfang		Mitte		Ende	
I	II	I	II	I	II
5,2	2	6,5	2	8,3	2
5,3	5	6,6	4	8,4	6
5,4	5	6,7	4	8,5	10
5,5	11	6,8	4	8,6	10
5,6	12	6,9	6	8,7	15
5,7	16	7,0	12	8,8	13
5,8	28	7,1	11	8,9	19
5,9	17	7,2	13	9,0	20
6,0	9	7,3	20	9,1	10
6,1	7	7,4	11	9,2	6
6,2	5	7,5	12	9.3	4
6,3	2	7,6	6	9,4	2
6,4	1	7,7	5	9,5	2
		7,8	6	9,6	1
		7,9	3		
		8,0	1		

Die Vorkerne vor der Chromosomenbildung zur ersten Furchungsteilung und Tochterkerne der ersten Furchungsteilung

Vorkerne				Tochterkerne			
I	II	I	II	I	II	I	II
9,7	1	10,8	8	7,6	1	8.7	11
9,8	2	10,9	8	7,7	2	8,8	6
9,9	3	11,0	7	7,8	4	8,9	3
10,0	5	11,1	5	7,9	7	9.0	5
10,1	4	11,2	6	8,0	9	9,1	2
10,2	10	11,3	4	8,1	7		
10,3	13	11,4	3	8,2	10		
10,4	8	11,5	3	8,3	13		
10,5	8	11,6	5	8,4	17		
10,6	8	11,7	3	8,5	11		
10,7	6			8,6	12		

I = Größe des Durchmessers
II = Häufigkeit des Vorkernes

Die Standardabweichung beträgt für:

Die Vorkerne direkt vor der Chromosomenbildung zur ersten Furchungsteilung 0,49326
Die Kerne der Ovogonien vor der Teilung 0,40639

Die Kerne der Ovogonien nach der Teilung	0,28407
Die Kerne der Spermatogonien vor der Teilung	0,27590
Die Kerne der Spermatogonien nach der Teilung	0,32969
Die Kerne des Anfangs der Wachstumsperiode der Ovocyten	0,29180
Die Kerne der Mitte der Wachstumsperiode der Ovocyten	0,31780
Die Kerne des Endes der Wachstumsperiode der Ovocyten	0,40417
Die Kerne des Anfangs der Wachstumsperiode der Spermatocyten	0,25179
Die Kerne der Mitte der Wachstumsperiode der Spermatocyten	0,32966
Die Kerne des Endes der Wachstumsperiode der Spermatocyten	0,27154
Die Tochterkerne der ersten Furchungsteilung	0,33476

Variationskoeffizient.

Die Vorkerne direkt vor der Chromosomenbildung zur ersten Furchungsteilung	4,6178 = 4,62
Die Kerne der Ovogonien vor der Teilung	4,9479 = 4,95
Die Kerne der Ovogonien nach der Teilung	4,4095 = 4,41
Die Kerne der Spermatogonien vor der Teilung	3,8705 = 3,87
Die Kerne der Spermatogonien nach der Teilung	5,8466 = 5,85
Die Kerne des Anfangs der Wachstumsperiode der Ovocyten	4,4520 = 4,45
Die Kerne der Mitte der Wachstumsperiode der Ovocyten	3,8510 = 3,85
Die Kerne des Endes der Wachstumsperiode der Ovocyten	3,8709 = 3,87
Die Kerne des Anfangs der Wachstumsperiode der Spermatocyten	4,4120 = 4,41
Die Kerne der Mitte der Wachstumsperiode der Spermatocyten	4,5470 = 4,55
Die Kerne des Endes der Wachstumsperiode der Spermatocyten	3,0710 = 3,07
Die Tochterkerne der ersten Furchungsteilung	3,9947 = 4,00.

Die Kerngrößen sind also auch einer gewissen Variabilität unterworfen; ihr Maß ist aber in den verschiedenen Stadien ungefähr gleich.

4. Beziehungen der Chromosomengröße zu der Kerngröße.

Vergleichen wir nunmehr die für die Chromosomen gewonnenen Ergebnisse mit den für die Kerne erzielten.

1. Wandlungen der Chromatinmenge und der Kernvolumina während des Chromosomencyklus.

Während des Chromosomencyklus verändert sich die Chromatinmenge in den verschiedenen Stadien und ist am größten von allen Stadien, welche ich untersucht habe, zur Zeit wo die Chromosomen im Eikern und Samenkern neu aufgetreten sind, aber sich noch nicht zur Bildung der Äquatorialplatte zusammengefunden haben. Während der Wachstumsperiode vergrößert sich die Chromatinmenge im Ei auf das dreifache, in der Samenzelle auf das fünffache nach den Ovogonien- bzw. Spermatogonienteilungen. Ebenso hat das Kernvolumen verschiedene Größe in den verschiedenen Stadien. Vor der ersten Furchungsteilung ist dasselbe (die Summe von Ei- und Samenkern) am größten von allen Stadien, welche ich untersucht habe, und die Kerne am Ende der Wachstumsperiode der Ovocyten bzw. Spermatocyten sind dreimal größer als die Kerne am Anfang dieses Stadiums nach der Teilung.

2. Quantitative Verteilung des Chromatins und Kernes.

Wie die Chromatinmenge nach der Teilung immer die Hälfte derjenigen vor der Teilung ist, so ist auch die Kerngröße nach der Teilung die Hälfte derjenigen vor der Teilung.

3. Variabilität der Chromosomen und Kerne eines Stadiums.

Wie die Chromosomengrößen, so zeigen auch die Kerngrößen eine typische Kurve der Variabilität. Während aber das Maß der Variabilität der Chromosomen in den verschiedenen Stadien wechselt, ist es für die Kerne ungefähr gleich. Das spricht dafür, daß die Verschiedenheiten, welche meine Messungen der Chromosomengröße ergeben haben, nicht durch die Mängel meiner Methodik bedingt, sondern im Objekt selbst gegeben sind. Die oben gegebene Erklärung für dies Verhalten der Chromosomen ist die richtige und die Boverische Regel über das quantitative Verhältnis von Chromosomenmasse und Kernvolumen ist nicht etwa durchbrochen. Die scheinbaren Ausnahmen sind dadurch herbeigeführt, daß Unterschiede in den Chromosomenformen existieren, welche den Ausfall der Messungen beeinflussen.

4. Frequenzkurven und specifische Chromosomengröße.

Viele Tiere zeigen ganz charakteristische und typische Unterschiede in der Größe ihrer Chromosomen innerhalb einer und derselben Äquatorialplatte. Dies ist bei *Ascaris* nicht direkt nachweisbar. Wenn wir nun die Einzeltiere in bezug auf die ihnen eigentümlichen Chromosomengrößen vergleichen, so werden wir mit äußerst charakteristischen und typischen Unterschieden bekannt, welche in den für die Variabilität der Chromosomengröße konstruierten Kurven zum Ausdruck kommen. Ein Blick auf die Taf. I und II lehrt, daß wir zwei Gruppen von Tieren unterscheiden können. Die eine ist durch die Fig. 1—4 und 10—13 gegeben;

Fig. 1—4 beziehen sich auf Länge (1*a*—4*a*) und Breite bzw. Dicke (1*b*—4*b*), die Fig. 10—13 auf die berechneten relativen Volumina. Die andre ist durch die Fig. 5—8 und 14—18 gegeben. Fig. 5—8 beziehen sich auf Länge (5*a*—8*a*) und Breite bzw. Dicke (5*b*—8*b*); die Fig. 14—18 auf die berechneten relativen Volumina.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Die Abszissen geben die gemessenen Größen, die Ordinaten die Häufigkeit ihres Vorkommens.

Fig. 1—9. Länge, Breite und Dicke der Chromosomen.

Fig. 1*a*. Die Länge während der ersten Richtungskörperbildung in der Ovocytenteilung.

Fig. 1*b*. Die Breite und Dicke in derselben Zeit.

Fig. 2*a*. Die Länge während der zweiten Richtungskörperbildung in den Ovocyten.

Fig. 2*b*. Die Breite und Dicke in derselben Zeit.

Fig. 3*a*. Die Länge bei der ersten Teilung während der Spermatocytenteilung.

Fig. 3*b*. Die Breite und Dicke in derselben Zeit.

Fig. 4*a*. Die Länge bei der zweiten Teilung während der Spermatocytenteilung.

Fig. 4*b*. Die Breite und Dicke in derselben Zeit.

Fig. 5*a*. Die Länge während der Prophase bei der Spermatogonienteilung.

Fig. 5*b*. Die Breite und Dicke in derselben Zeit.

Tafel II.

Fig. 6*a*. Die Länge während der Prophase bei der Ovogonienteilung.

Fig. 6*b*. Die Breite und Dicke in derselben Zeit.

Fig. 7*a*. Die Länge während der Telophase bei der Spermatogonienteilung.

Fig. 7*b*. Die Breite und Dicke während derselben Zeit.

Fig. 8*a*. Die Länge während der Telophase bei der Ovogonienteilung.

Fig. 8*b*. Die Breite und Dicke in derselben Zeit.

Fig. 9*a*. Die Länge während der ersten Furchungsteilung.

Fig. 9*b*. Die Breite und Dicke in derselben Zeit.

Fig. 10—18. Die Volumina der Chromosomen.

Fig. 10. Die Volumina während der ersten Richtungskörperbildung in der Ovocytenteilung.

Fig. 11. Die Volumina während der zweiten Richtungskörperbildung der Ovocytenteilung.

Fig. 12. Die Volumina bei der ersten Teilung während der Spermatocytenteilung.

Fig. 13. Die Volumina bei der zweiten Teilung während der Spermatocytenteilung.

Fig. 14. Die Volumina während der Prophase bei der Spermatogonienteilung.

Tafel III.

Fig. 15. Die Volumina während der Prophase bei der Ovogonienteilung.

Fig. 16. Die Volumina während der Telophase bei der Spermatogonienteilung.

Fig. 17. Die Volumina während der Telophase bei der Ovogonienteilung.

Fig. 18. Die Volumina während der ersten Furchungsteilung.

Fig. 19—23. Die Größe der Kerne.

Fig. 19*a*. Die Größe der Vorkerne direkt vor der Chromosomenbildung zur ersten Furchungsteilung.

Fig. 19*b*. Die Größe der Tochterkerne nach der obigen Teilung.

Fig. 20*a*. Die Größe der Kerne nach der Ovogonienteilung.

Fig. 20*b*. Die Größe der Kerne vor der Ovogonienteilung.

Fig. 21*a*. Die Größe der Kerne nach der Spermatogonienteilung.

Fig. 21*b*. Die Größe der Kerne vor der Spermatogonienteilung.

Fig. 22*a*. Die Größe der Kerne des Anfangs der Wachstumsperiode der Ovocyten.

Fig. 22*b*. Die Größe der Kerne der Mitte der Wachstumsperiode der Ovocyten.

Fig. 22*c*. Die Größe der Kerne des Endes der Wachstumsperiode der Ovocyten.

Fig. 23*a*. Die Größe der Kerne des Anfangs der Wachstumsperiode der Spermatocyten.

Fig. 23*b*. Die Größe der Kerne der Mitte der Wachstumsperiode der Spermatocyten.

Fig. 23*c*. Die Größe der Kerne des Endes der Wachstumsperiode der Spermatocyten.

Sul comportamento delle sostanze lipose del sistema nervoso centrale dopo l'autolisi.

Per il

Dottor **Alberto Ziveri,**

[Manicomio Provinciale di Macerata (Direttore L. Lugiato).]

L'argomento della metamorfosi grassa, della così detta «Verfettung» dei tedeschi, ha dato luogo in questi ultimi anni a numerosi e importanti studi. Le recenti monografie di Kawamura, D'Agata, Ciaccio danno una precisa idea del come si siano svolte fino all'epoca attuale queste ricerche.

Le questioni principali che furono dibattute sono due: 1° l'origine delle sostanze grasse; 2° la natura delle medesime.

Alla prima questione si può, ora, rispondere che l'origine è doppia, esogena in date circostanze per deposito di sostanze grasse provenienti dai succhi nutritizii ed endogena in altre circostanze e qui il fenomeno dipende dal «rendersi evidenti» di date sostanze lipose che normalmente esistono nel plasma cellulare ma che sono mascherate verosimilmente perchè legate con complessi proteici. Secondo alcuni autori tali sostanze possono già trovarsi in uno stato intermedio e, almeno, in certi casi, formerebbero il sostrato principale delle sostanze che appaiono come lipose; noto qui a proposito i così detti «liposomi» di Albrecht e l'apparato mitocondrico più di recente tratto in questione. Inoltre possono aggiungersi i così detti da Ciaccio «lipoidi di imbibizione», cioè minutissime particelle adipose diffuse in tutto il plasma cellulare e non risolubili coi comuni ingrandimenti microscopici.

Riguardo la seconda questione, malgrado le numerose ricerche di ordine chimico, chimico-fisico, istochimico, non si è ancora potuto rispondere con esattezza minuta e ciò per causa della enorme complessità delle sostanze lipose dei tessuti. Però nelle linee generali si può ora affer-

mare che, a seconda dei casi, pure esistendo sempre le mescolanze, prevalgono o gli eteri colesterinici e acidi grassi o i lipoidi, in più piccola parte i saponi. In relazione a queste prevalenze notate dai diversi ricercatori, si sono impiegate diverse denominazioni atte a caratterizzarle e così secondo Aschoff nel caso di formazione esogena si ha la steatosi, nel caso di formazione endogena si ha la mielinosi. Secondo Kaiserling la prima si suddivide in liposi (eteri glicerinici), steatosi (eteri colesterinici), lipoidosi (lipoidi); mielinosi restando ancora la designazione della formazione endogena. Ciaccio così ha modificato lo schema classificativo:

1° lipoidosi anabolica (esogena) divisa in liposi, lipoidosi e lipolipoidosi infiltrativa.

2° lipoidosi regressiva (endogena) divisa in lipolisi e lipoidolisi. La formazione di sostanze grasse post-mortale evidentemente è di natura endogena e un tempo servì, come è noto, di appoggio ai sostenitori della teoria, ormai tramontata, della trasformazione degli albuminoidi in grassi. È alquanto strano però che dopo tanti studi che hanno demolito tale teoria, si trovi un ricercatore (Venuti) il quale facendo ricerche sulla «scomposizione cadaverica con formazione di grassi» operando su fegato e reni venga a concludere che «si abbia una neoformazione di grasso che si origina dagli albuminoidi cellulari» mentre le forme mieliniche endocellulari attingono la loro genesi dai granuli di grasso preesistenti (liposomi di Albrecht).

Oggidì soltanto si ritiene possibile in via teorica una scissione di glicogeno dall'albumina (Kraus) e poichè è possibile la formazione di grassi dagli idrati di carbonio, teoricamente non sarebbe esclusa questo ulteriore passaggio della trasformazione albuminoide; ma questo nei processi patologici non è provato e ad ogni modo il meccanismo sarebbe diverso da quello della comune «Verfettung» (Dietrich). Resta ora da verificare due fatti: 1° se la trasformazione liposa postmortale (mielinosi autolitica) dà prodotti analoghi a quelli delle formazioni grasse e lipoidi che avvengono nei tessuti viventi. 2° Se le formazioni mielino-autolitiche sono uguali nelle cellule che contengono sostanze lipoidi solo allo stato nascosto come in quelle che presentano tali sostanze in modo evidente.

Al primo quesito si può rispondere che alcuni A. A. erano di opinione che i due processi fossero pressochè identici, ma altri, con a capo Dietrich, non credono che vi sia alcun rapporto: «Autolyse mit Zellverfettung in keine direkten Beziehungen gebracht werden kann» e che soltanto esistano alcune analogie. Kawamura così si esprime per la distinzione fra la mielinosi autolitica (postmortale) da quella necrobiotica

(rigonfiamento parenchimatoso, necrosi tossica, interruzione del circolo arterioso ecc.). «In questa compaiono sostanze rilucenti opache che hanno la tendenza alla formazione di zolle mieliniformi. Esse sostanze mostrano occasionalmente, se pur di rado, la doppia rifrangenza e mostrano anche un comportamento mutantesi verso le colorazioni col blu Nilo, col Sudan e col Rosso neutro; però quest'ultimo dà quasi sempre, per lo meno col riscaldamento, risultato positivo. Coi metodi di Smith le sostanze si colorano positivamente. Per ciò si distinguono bene dai birifrangenti eteri colesterinici. È notevole che questa birifrangenza non si altera, o poco, col leggero riscaldamento. È difficile poter dire di che sostanze si tratti; con certezza si possono escludere gli eteri glicerinici e colesterinici a cagione della lucentezza opaca e così pure le mescolanze di colesterina e acidi grassi. Si devono considerare soltanto i fosfatidi, cerebrosidi, saponi e rispettivamente gli acidi grassi liberi. Dato il contemporaneo disfacimento nucleare è da pensarsi anzitutto a un passaggio di fosfatidi nucleari nel protoplasma.»

La mielina postmortale o autolitica si distingue dall'altra, intanto perchè per la sua origine si può escludere la influenza dei succhi organici circolanti.

Secondo Kawamura poi (all'opposto di quanto osservarono Cesa Bianchi e Launoy) non mai compaiono sostanze birifrangenti. Il comportamento però verso il rosso neutro, il blu Nilo e il Sudan è uguale a quello della mielina necrobiotica, soltanto la colorazione col rosso neutro è in alcuni organi mutevole e relativamente più chiara. I metodi di Smith riescono positivi. Anche qui l'opinione che l'origine sia dai fosfatidi nucleari è assai probabile. Secondo Kawamura ancora nulla si può dire circa i rapporti fra i liposomi di Albrecht e la mielina autolitica e necrobiotica.

Riguardo la metamorfosi mielinica delle sostanze grasse che preesistevano in forma evidente nella cellula (la così detta paramielina di Aschoff) Krontowski ammette che le sostanze grasse preesistenti nelle cellule subiscano delle trasformazioni, forse lipolitiche che si comportano differentemente dal punto di vista microchimico (per es. colorazione col metodo di Fischler) e si ha formazione di acidi grassi oltre ai lipoidi che si hanno nell'autolisi di cellule prima non mostranti grasso. Shitata conferma che nell'autolisi asettica nè gli acidi grassi elevati nè la colesterina subiscono modificazioni. Il comparire di gocciole negli organi autolitici proviene, secondo lui, dallo scindersi di radicali di acidi grassi dalla combinazione di molecole di alta complessità.

Kawamura così scrive: «L'esempio più conosciuto è quello delle cellule epatiche in cui il grasso neutro gradatamente va aumentando la sua colorabilità col rosso neutro. Essa inizia alla periferia e dipende o da una distruzione del grasso neutro o dalla liberazione di acidi grassi o formazione di saponi o da una apposizione di lipoidi liberantisi dai nuclei, alla superficie delle gocciole grasse. È notevole che gli eteri di colesterina subiscono molto più lentamente questa formazione paramielinica che gli eteri glicerinici.»

Dopo queste premesse generali intendo occuparmi un poco più in particolare dei fenomeni in questione per quanto riguarda il sistema nervoso centrale.

Che in molte manifestazioni patologiche e anche nella semplice senilità nelle cellule nervose si notino depositi liposi, è cosa notissima, ma anche nell'uomo normale giovane si possono trovare sostanze lipose nei vasi e nelle cellule. Che esistano tali sostanze fisiologicamente in dati animali (lipoidi di imbibizione) è stato pure dimostrato (Luna). Così pure formazioni mitocondriche (che si ritiene abbiano rapporti con le sostanze in parola) sono state descritte oltre che nell'animale neonato, anche nell'adulto (Nageotte, Busana, Faure-Fremiet, Hoven, Luna, ecc.). Nel sistema nervoso si può quindi ammettere esista una «Verfettung» esogena e una «Verfettung» endogena.

La natura delle sostanze lipose del sistema nervoso è, nonpertanto, ancora allo studio essendo i risultati ottenuti dai ricercatori alquanto contraddittorii. In ricerche eseguite chimicamente Allers non avrebbe trovato nei cervelli senili, nè eteri colesterinici nè grasso; avrebbe poi trovato come prodotti patologici un fosfosolfatide saturo e un fosfatide saturo contenente galattosio e un fosfatide insaturo che presentano la facoltà di sciogliersi in acetone ed etere di petrolio. Serono e Palozzi nel cervello degli erbivori non poterono dimostrare in quantità apprezzabile i grassi neutri, ma trovarono gli eteri colesterinici oleico e palmitico, lecitine oleica e palmitica, cerebrina e cerasina; Grey ed Egerton avrebbero invece isolato dal cervello umano acidi grassi liberi saturi (acido stearico, palmitico e miristico e forse un isomero dell'acido stearico) e insaturi (acido oleico, linolico, linoleinico, clupanodenico e forse un isomero dell'acido oleico). In ricerche d'ordine istologico, Rachmanow rinvenne (nell'animale) gli acidi grassi liberi nel pigmento giallo delle cellule nervose; nelle cellule nevrogliche e nelle cellule avventiziali si troverebbero perifericamente anche i grassi neutri (eteri glicerinici). Kawamura in lesioni del sistema nervoso (focolai apoplettici, tabe dorsale) trovò che le sostanze adipose delle cellule nervose non sono birifrangenti, mentre

nelle Körnchenzellen e negli spazii perivascolari si trovano sostanze birifrangenti-granulari (nei preparati non fissati) rossastre al trattamento col Nilblu; mentre nei preparati trattati, quelle stesse sostanze birifrangenti assumevano forma cristallinica aghiforme che col calore si trasformava di nuovo in sferule, comportantisi ad ogni modo verso i colori allo stesso modo che nei preparati non fissati. In emorragie recenti trovò nelle Körnchenzellen granuli non birifrangenti tingentisi in blu rossastro col blu Nilo; e in un caso trovò numerose figure mieliniche in alcuni punti birifrangenti e colorantisi col metodo Smith-Dietrich, in altri punti monorifrangenti e non colorantisi con questo metodo.

Secondo Biondi nel pigmento giallo delle cellule nervose (nel cane) non si trovano nè gli eteri colesterinici nè gli acidi grassi liberi ma in vece eteri glicerinici commisti a lipoidi (fosfatidi).

Roussy e Laroche trovarono i corpi birifrangenti nelle cellule granulose, mentre nelle cellule nervose (senili) le sostanze lipose furono sempre monorifrangenti. Nelle cellule granulose notarono bolle e cristalli tinti in rosa, bolle tinte in blu e punti tinti in rosso; nelle cellule nervose, tinte in blu col blu Nilo; mentre le fibre midollari appaiono birifrangenti e tinte in violaceo-rosa col Nilo. Secondo i detti autori il così detto lipocromo consiste di lecitina.

Nelle mie ricerche precedenti su le sostanze lipoidi del sistema nervoso centrale in condizioni patologiche, avevo escluso che nelle cellule nervose (forme senili-arteriosclerotiche-epilessia) le sostanze adipose fossero costituite di acidi grassi e grassi neutri, ammisi in vece che tali sostanze fossero principalmente costituite di fosfatidi e cerebrosidi; ammisi pure che grassi neutri e acidi grassi si trovassero soltanto nei focolai di rammollimento. Marinesco usando l'ultramicroscopio crede di identificare il pigmento adiposo delle cellule nervose come un sistema formato di granulazioni proteiche e accumuli di lipoidi legati fortemente fra loro. Kraus ha eseguito ricerche in questo senso sull'ipofisi umana e ha trovato nelle cellule gocciole di sostanze lipoidi isotrope, combinate con una sostanza albuminoide, aumentanti col crescere dell'età. Si tratta però di mescolanze di lipoidi e in parte di eteri colesterinici, acidi grassi e saponi. Il comparire di sostanze birifrangenti è indizio di un abbassamento della funzione cellulare. Negli interstizii si trovano granulazioni polverulenti di natura prevalentemente etero-glicerinica e sono un fenomeno di invecchiamento. Nel tessuto connettivo paraipofisario poi compare costantemente il grasso neutro e geodi cristalline birifrangenti date da acidi grassi.

Secondo Stuermer i corpuscoli amiloidi che si trovano nel sistema nervoso dell'uomo si possono considerare costituiti principalmente, in

base a ricerche comparative con le sostanze in vitro, di una «Mischung von Sphingomyelinen und Phrenosinen mit einem glykogen- oder sonst kohlehydratähnlichen Körper, unter Beteiligung irgendeiner beim Abbau der Lipoide freiwerdenden Fettsäure». Studiando le sostanze basofile metacromatiche, Bonfiglio nelle cellule granulose ottenne col blu Nilo grosse granulazioni tinte in rosso e granulazioni più piccole tinte in azzurro. Non ha mai riscontrato granulazioni colorate coi diversi metodi a lacche ematossiliniche; i prodotti metacromatici da lui denominati α si colorano col metodo di Ciaccio; questi prodotti (fissazione in formolo) non sono birifrangenti.

Buscaino, in un recente studio basandosi sul metodo delle estrazioni frazionate seguite dalle colorazioni specifiche, nelle pareti vasali (soggetti normali e patologici) descrive i cumuli lipoidi «come costituiti essenzialmente di grassi neutri in prevalenza, fosfatidi non saturi con tracce di altri fosfatidi e fors'anche di cerebrosidi». Intorno ai nuclei nevroglici le granulazioni consistono «essenzialmente di fosfatidi suturi; forse anche solfofosfatidi e cerebrosidi e forse anche tracce di grassi neutri»; nelle zone perilacunari (cellule granulose) accumuli di grassi neutri ed eteri di colesterina. Nelle cellule nervose, normali e patologiche, secondo l'A. si trovano le stesse sostanze degli elementi nevroglici (non delle cellule granulose).

Mi sono limitato a riassumere le opinioni dei più recenti ricercatori e ciò malgrado si notano differenze di reperti e di opinioni. Ciò è dovuto in parte alla diversità del materiale usato (uomo-animali) e in parte all'imperfezione dei metodi di ricerche, anche i più moderni. Lo stesso metodo della estrazione frazionata (Fraenkel) applicato alle ricerche istologiche, non è completamente sicuro, sebbene oggidì il migliore. La ragione di ciò sta nel fatto che le mescolanze dei diversi corpi modificano grandemente le proprietà di solubilità dei medesimi, producendosi il fenomeno di influenze reciproche facilitanti la solubilità, fatto comune anche ai corpi albuminoidi.

Ciò non ostante ho creduto ripetere ancora alcune ricerche sul comportamento delle diverse sostanze lipose sotto l'azione della autolisi e, poichè in questo caso si tratta di ricerche comparative fra le medesime sostanze prima e dopo di detta azione, credo siano sufficienti i metodi più recentemente usati, almeno per definire le più importanti differenze microchimiche eventualmente riscontrabili.

I metodi che ho scelto sono quello della luce polarizzata; la colorazione col blu Nilo, il metodo di Smith prima e dopo i passaggi nella serie dei solventi di Fraenkel. In dati casi usai anche la colorazione con

tionina (24 ore) differenziando con acido acetico (1%) e montando senza passaggi in alcool e xilolo; e la colorazione con fucsina di Ziehl allungata e differenziando pure con soluzione di acido acetico come per la tionina.

Materiale impiegato:

Cervello di vitello (due esemplari);

Cervello e midollo di dementi senili (quattro esemplari);

Cervello e midollo di arteriosclerotici (due esemplari).

Osservai diverse regioni corticali, ma ho preferito sopratutto operare sul corno d'ammone: 1° perchè in tale regione l'intreccio delle fibre è poco intralciante; 2° perchè le grosse cellule piramidali sono quelle che si presentano più ricche di materiali liposi (come le cellule del corno anteriore del midollo e le grandi piramidali della corteccia centrale) e ciò anche in età abbastanza giovanile. Osservai anche il midollo spinale e i gangli della base. Noto fin da ora che le sostanze lipoidi delle grosse cellule del corno d'ammone non contengono che assai scarso la pigmentazione gialla, che in vece mostrano le altre grosse cellule su menzionate; come dirò in seguito più estesamente, questa presenza modifica le trasformazioni autolitiche nel senso di una resistenza ad essa; il corno d'ammone rimane quindi, anche per questa ragione, uno dei punti più adatti per le ricerche qui in discorso.

Le parti non sottoposte all'autolisi furono esaminate al più presto possibile (8—12 ore dopo la morte).

Le parti sottoposte all'autolisi rimanevano in una scatola di Petri per otto-dieci giorni a una temperatura ambiente di +8+12 centigradi. Ho tralasciato l'autolisi asettica poichè è stato notato (Venuti) che la invasione saprofitica non influisce sull'autolisi. Io pure ho notato che i microorganismi si limitano a invadere la superficie dei pezzi e dopo quei giorni non hanno mai invaso le parti interne.

I pezzi prima di sezionarli erano fissati in formolo all' 8% per 48 ore.

L'osservazione microscopica fu eseguita a luce artificiale (elettrica a incandescenza) perchè si mostrano più spiccate le diverse gradazioni dei colori, specie: azzurro-violetto-rosso; inoltre riesce meglio l'osservazione a luce polarizzata.

Per determinare la natura dei corpi liposi autolitici mi sono servito (pur tenendo conto di tutte le riserve delle cause d'errore, come più in dietro ho accennato) delle tavole colorimetriche di Kawamura, mia e di Stuermer eseguite su prodotti «in vitro». A proposito di quest'ultimo autore noterò come egli ha trovato che l'olio di oliva si colora in azzurro

col blu Nilo; ciò non è ,e, tanto nelle mie prove precedenti, come in riprove attuali, debbo dire che l'olio di olivo puro si colora sempre in rosso como si colorano sempre in rosso i grassi animali freschi (bue, maiale, pollo).

Ho compiuto altre ricerche complementari, sempre »in vitro« che prima non avevo praticato [1]) e più che altro per investigare se potevo trovare una mescolanza che desse la colorazione rossa (così detta metacromatica) coi colori basici di anilina (tionina, blu di toluidina) propria delle sostanze denominate basofilo-metacromatiche che nei processi degenerativi del sistema nervoso pare abbiano una certa importanza. Parallelamente ho usato anche per confronto la fucsina basica, il blu Nilo, lo Smith.

Devo notare che il miglior metodo per determinare in vitro l'azione colorante è quello di spalmare le sostanze (quando queste non siano liquide, nel qual caso si scuotono di frequente in provetta con la soluzione colorante) su vetri coprioggetti, ponendo un poco del corpo (liquefatto, se è allo stato solido) fra due vetri e strisciando l'uno sull'altro. I vetri si pongono poi nelle soluzioni coloranti contenute in scatole di vetro, e, dopo il numero di ore determinato, si lavano in acqua distillata. Il metodo della carta da sigarette imbevuto delle sostanze da esaminare (Wlassak) mi pare molto meno adatto. Con il procedimento suddetto ho colorato anche preparati fatti con sostanza bianca di cervello di vitello prima e dopo dell'autolisi, facendo essiccare la sostanza sul vetro prima di colorare (vedi Tavola a pag. 127).

Debbo qui fare una modificazione riguardo i dati da me riportati nel mio precedente lavoro; mentre allora notai che l'olio di oliva rimaneva incoloro alla fucsina, in mie ricerche attuali con due campioni di olio di oliva (garantito puro) e in un campione di olio di mandorle ottenni invece una colorazione leggermente rossa. Col blu di toluidina in un campione di olio di olivo ebbi un color carmino violaceo chiarissimo, l'altro rimase incoloro; l'olio di mandorle prese il rosso lieve con la fucsina e un azzurro violaceo con il blu di toluidina. Probabilmente tali differenze possono dipendere dalla presenza di piccole quantità di acidi grassi liberi (che colla fucsina e il blu di toluidina si colorano intensamente) e di sterine (fitosterina) (che pure si colorano col blu di toluidina e con la fucsina). Ciò del resto avviene anche per i grassi animali: così ho trovato che il grasso di bue rimane incoloro per la fucsina e col blu di toluidina, mentre

[1]) Debbo alla cortesia del Prof. C. Serono, direttore dell'Istituto Medico farmacologico in Roma, l'oleato di colesterina su cui ho sperimentato e ne lo ringrazio vivamente.

Corpi e mescolanze	Blu Nilo	Fucsina Ziehl	Tionina	Blu di Toluidina	Smith a freddo
Ovalbumina	azzuro	rosso cremisi		viola cupo	
Protagone	azzurro leggermente violaceo	rosso cremisi vivo		rosso cremisi leggermente violaceo	
Oleato di colesterina	viola debolissimo	rosso cremisi	incoloro	incoloro	?
Colesterina + olio di olivo	rosso chiaro	rosso cremisi chiaro		incoloro	lacca debolissima
Lecitina + protagone	azzurro			viola cupo	
Oleato di colesterina + lecitina	azzurro	rosso cremisi		viola	lacca debole
Oleato di colesterina + protagone	rosa lilla pallidissimo	rosso cremisi chiaro		quasi incoloro (nuance azzurro-viola lievissima)	
Oleato di colesterina + acido oleico	viola rosso	rosso cremisi vivo		incoloro	
Colesterina + acido oleico + acido palmitico	rosso tendente al violaceo	rosso cremisi intenso		azzurro	lacca debolissima
Colesterina + protagone + acido oleico	violaceo chiaro	rosso cremisi cupissimo		azzurro violaceo	lacca discreta
Oleato di colesterina + grassi neutri (grassi di maiale — olio di mandorle)	rosso chiaro	rosa pallidissimo		incoloro	negativo

Corpi e mescolanze	Blu Nilo	Fucsina ZIEHL	Tionina	Blu di Toluidina	SMITH a freddo
Oleato di colesterina + colesterina + acido oleico	rosso chiaro	rosso cremisi cupo		azzurro	
Oleato di colesterina + protagone + acido oleico	viola un po'rosso, chiaro	rosso cremisi vivo	viola rosso	viola un po' rosso chiaro	
Oleato di colesterina + lecitina + protagone	azzurro	rosso cremisi cupo		viola cupo	lacca
Oleato di colesterina + grasso di pollo + protagone	rosso chiaro	rosso cremisi chiaro		incoloro	
Oleato di colesterina + colesterina + protagone + acido oleico			viola	viola	?
Sostanza bianca fresca di cervello di vitello	azzurro intenso	rosso cremisi intenso		viola un po' rosso (a luce artificiale)	lacca discreta
Idem dopo trattamento in acetone di 8 ore	azzurro			viola un po' rosso	
Idem dopo trattamento in acetone (8 ore) ed etere di petrolio (12 ore)	azzurro chiaro			viola un po' rosso chiaro	
Idem dopo autolisi	azzurro	rosso cremisi intenso		viola	

il grasso di maiale prende con la fucsina un color rosso leggerissimo rimanendo incoloro con l'azzurro di toluidina; il grasso di cappone rimane pure incoloro col blu di toluidina, rimanendo tinto lievissimamente in rosa colla fucsina. Anche qui la colorazione lieve che possono assumere i grassi animali deve probabilmente dipendere dalle tenui quantità di acidi grassi e di colesterina contenuti in essi. Infatti nel mio primo lavoro poichè usai grasso di maiale alquanto stagionato e olio di merluzzo, ottenni color rosso chiaro con la fucsina e rosso violaceo con il blu di toluidina, appunto per il grado minore di purezza di quei campioni di grassi. È a ritenersi quindi che i grassi neutri puri rimangano incolori o pressochè colla fucsina e col blu di toluidina. Dopo i criterii di colorabilità vi sono i criterii di solubilità dei diversi corpi e per ciò ho seguito la seguente tavola desunta dai diversi autori:

Corpi solubili in:

Acetone	Etere di petrolio	Benzolo-Alcool-Etere
Colesterina e suoi eteri	Fosfatidi non saturi	Fosfatidi saturi
—	—	Solfofosfatidi
Grassi neutri (meno la tripalmitina)	Un galattoside	—
—		Cerebrosidi
Acidi grassi		
—		
Saponi		
—		
Due lipoidi		

A proposito poi dei corpi birifrangenti, noto come vi sia diversità di giudizii fra autore e autore. Non devesi dimenticare che tutti i corpi grassi e lipoidi nella fase cristallina solida sono birifrangenti; quindi la birifrangenza in forme cristalline angolari non ha alcun valore distintivo (ho potuto confermare questo per tutte le sostanze pure esaminate, sì solo che associate: acidi grassi, saponi, eteri glicerinici, eteri colesterinici lecitine, protagone, cerebrina, colesterina). L'importante è di sapere quali sostanze danno birifrangenza nella fase cristallina liquida. Fra queste sostanze, secondo Aschoff, solo gli eteri di colesterina la danno costantemente e facilmente. Ma altri composti hanno tale facoltà e siccome tale fase si ha a una temperatura diversa a seconda dei diversi corpi o mescolanze, sarebbe necessario di conoscere il punto della temperatura in cui ogni singolo corpo o mescolanza di corpi passa nella fase cristallina liquida

(fase intermedia fra cristallizzazione e liquefazione). Ma poichè a temperatura ordinaria solo pochi sono i corpi che la presentano e più di tutti gli eteri (oleico) colesterinici e lecitina, la mescolanza di acido oleico + colesterina e forse i saponi oleici, si può utilizzare anche il metodo della luce polarizzata che sarebbe di gran lunga più utile, come ben dice il Rocchi, qualora si potessero usare contemporaneamente tavolino riscaldabile e polarizzatore e si conoscessero tutti i punti di fusione e di cristallizzazione e relativa fase cristallina liquida dei diversi composti e mescolanze. Dei puri criterii di colorabilità si sa che valgono soltanto se confrontati fra loro: una singola colorazione non insegna nulla. Ad ogni modo è bene ricordare:

1. Che il blu di toluidina lascia incolori gli eteri (oleico) colesterinici, le mescolanze oleato colesterina + grassi neutri: oleato colesterina + grassi neutri + protagone: oleato colesterina + acido oleico.

2. Che la fucsina di Ziehl lascia incolori o tinge debolissimamente i grassi neutri puri, l'oleato di colesterina + grassi neutri.

3. Il metodo di Smith Weigert non dà lacca a freddo con i grassi neutri, acidi grassi, eteri di colesterina. È poi da notarsi come gli acidi grassi i quali assumono col blu Nilo un colore azzurro cupo, basta che siano commisti a colesterina o a colesterina insieme al suo etere oleico, perchè assumano una tinta rossa più o meno netta.

Le ricerche fatte per trovare in vitro sostanze e mescolanze che abbiano i caratteri tintorii delle sostanze basofilo-metacromatiche non mi hanno dato risultati nettamente decisivi. La sostanza bianca spalmata su vetrino assume colorazione viola (più rossastra a luce artificiale)[1] e ciò pure, sebbene più pallida, dopo trattamento acetonico (60 ore) e dopo trattamento acetonico e di etere di petrolio (6—12 ore); anzi dopo quest'ultimo doppio trattamento la «nuance» viola tende più al rosso. Ora poichè tali solventi disciolgono la colesterina e suoi eteri, i grassi neutri (tranne la tripalmitina) gli acidi grassi, i fosfatidi non saturi, alcuni lipoidi non determinati e un galattoside, è a ritenersi che la colorazione metacromatica non dipenda soltanto dalle sterine o lipoidi (protagone) ma anche dai complessi proteici. Le prove «in vitro» con mescolanze di eteri colesterinici e protagone non mi hanno dato risultati molto soddisfacenti, soltanto le mescolanze oleato di colesterina + protagone + acido oleico e oleato di colesterina + colesterina + protagone + acido oleico, hanno dato una tinta viola assomigliante a quella della sostanza bianca, mentre il protagone

---

[1]) La differenziazione in soluzione acetica aumenta la «nuance» rossastra.

Merk dà realmente col Nilo un blu leggermente violaceo, e colla tionina un bel cremisi con leggera tendenza al viola, vale a dire si comporta analogamente alle sostanze basofilo-metacromatiche; ma poichè le sostanze basofilo-metacromatiche, specie quelle descritte da Bonfiglio e da Doinikow e quelle della forma 2a di Casamajor, assumono forma di gocce o bolle, significa che debbono trovarsi allo stato semifluido alla temperatura del corpo; quindi non possono essere di solo protagone o cerebrosidi poichè questi fondono a temperatura più elevata (protagone fra 192° e 206°, cerebrosidi sopra dei 150°); sappiamo che l'oleato di colesterina in vece fonde a 41°—42° e rimane in superfusione anche sotto i 30°; e poichè la mescolanza oleato di colesterina, protagone, acido oleico fonde a temperatura bassa e dà in parte le stesse reazioni metacromatiche, potrebbesi supporre che nelle sostanze basofilo-metacromatiche vi sia la presenza di questi corpi; non si può però negare il componente proteico dopo quanto abbiamo visto nelle prove «in vitro» con la sostanza bianca. Che sostanze proteiche siano in quantità rilevabile anche in questa è noto da studii odierni i quali hanno sfrondato la vecchia opinione che la sostanza grigia ne contenga il doppio. Infatti Abderhalden e Weil, calcolando i valori dei singoli aminoacidi, notarono che vi è grande analogia fra sostanza bianca e grigia e poichè il contenuto di aminoacidi, secondo le ricerche di E. Fischer, corrisponde al contenuto di albumina, si deve ammettere (Weil) che entrambe le sostanze nervose abbiano quantitativamente e qualitativamente la stessa albumina (6—8% della sostanza fresca). Anche derivati purinici come xantina e ipoxantina furono trovati pressochè in quantità uguali nelle due sostanze (Lorenz).

Nessuna prova vi è che le sostanze basofilo-metacromatiche siano uno speciale prestadio di sostanze grasse come alcuno vuol ritenere; esse sono semplicemente probabili mescolanze di lipoidi, eteri colesterinici acidi grassi e proteine che potranno poi forse scindersi in composti più semplici. I granuli π di Reich dei nervi o sono prodotti anabolici, o di catabolismo fisiologico, mentre i granuli e gli ammassi π di Alzheimer e a di Bonfiglio sono prodotti catabolici patologici e dipendenti da lesioni distruttive nervose (della sostanza bianca e intercellulare).

Prima Serie.

Sistema nervoso normale di vitello.

Prima dell'autolisi.

Nelle cellule nervose. Non vi sono granulazioni lipoidee tinte col Nilo nè collo scarlatto.

Dopo l'autolisi.

Col Nilo sembra di notare qualche granulo sparso nelle cellule che sono colorate diffusamente in celeste. Invece collo scarlatto si notano fine granulazioni tinte in giallo pallido (monorifrangenti).

Dopo trattamento con acetone si nota ancora, tinto appena in pallidissimo giallo collo scarlatto, un certo numero di granulazioni nelle cellule nervose.

Dopo trattamento con acetone, etere di petrolio, benzolo, le granulazioni non si riescono più a discernere in modo sicuro.

Le fibre mieliniche si comportano, dopo l'autolisi, come nell'encefalo dell'uomo (V. più innanzi).

Seconda Serie.

Sistema nervoso di soggetti affetti di demenza senile e arteriosclerotica.

a) nelle cellule nervose

Prima dell'autolisi	Dopo l'autolisi
L'abbondante quantità di materiale liposo che invade buona parte del protoplasma si mostra nel corno d'ammone, prima dell'impiego dei coloranti, meno giallastro di quello che si trova nelle altre grosse cellule corticali e midollari, vale a dire esiste meno pigmento. Il pigmento giallastro si trova ben conservato anche dopo permanenza in formolo da due anni.	Le differenze di grado nella pigmentazione si mantengono inalterate; in quanto alla forma, v. sotto. Fra le cellule si notano minute granulazioni e figure mieliniche, queste probabilmente sono qui trasportate meccanicamente nelle manipolazioni.
Alla luce polarizzata le granulazioni sono monorifrangenti.	Restano monorifrangenti; soltanto attorno alle cellule si notano qua e là granuli e goccioline birifrangenti.
Col blu Nilo esse si colorano in blu e più spesso in violaceo (differenziazione più prolungata) nel corno d'ammone. Nelle cellule con molto pigmento, questo fa assumere una tinta blu verdastra o addirittura verdastra per la sommazione delle due tinte; è a notarsi che là dove la pigmentazione è molto spiccata (corno anteriore) è più scarsa l'assunzione del blu Nilo.	Le cellule ricche di pigmento non mostrano differenze apprezzabili di comportamento. Invece nelle grosse cellule del corno d'ammone si incontra in qualche punto che le granulazioni, prima dell'autolisi abbastanza uguali per dimensioni, sono divenute disuguali, alcune hanno confluito a mo' di grosse bolle alquanto irregolari e sono fuoriuscite dal corpo cellulare, esse si tingono più fortemente in blu.

Con la tionina le granulazioni sudette non rimangono colorate.	Idem.
Con la fucsina di Ziehl esse (corno d'ammone) assumono una colorazione intensa rossa che si può benissimo osservare malgrado il fondo del preparato sia rimasto ipercolorato in cremisi cupo.	Assumono anche dopo l'autolisi una forte colorazione rossa, forse alquanto più debole che prima dell'autolisi.
Col metodo delle lacche (cromo-ferrica) laccano facilmente le granulazioni delle grosse cellule del corno di ammone, meno facilmente le altre.	Perdono in parte la facoltà di formare lacca ematossilinica, si colorano cioè molto più pallidamente assumendo un aspetto polveroso diffuso.
Dopo trattamento con acetone (24 a 48 ore) le granulazioni appaiono alquanto agglutinate e assumono meno il blu Nilo rimanendo verdastre, verde più intenso quelle che più contengono pigmento giallo. Dopo acetone e benzolo assumono poco il blu Nilo, rimane solo o il fondo giallastro del pigmento o pure una colorazione verdastra più accentuata nelle cellule con molto pigmento (corno anteriore). Lo stesso anche dopo trattamento con alcool ed etere.	Idem.

b) nelle cellule e spazii perivasali.

Col blu Nilo, parte assume un color verdastro più o meno cupo; sono granulazioni fortemente pigmentate (pigmenti emosiderinici). Una parte assume il colore azzurro, un'altra parte (in grade minore) il color rosso, altre il colorito violaceo. Nelle zone rammollite aumentano di frequenza. Sono tutte monorifrangenti, tranne qualche granulo tinto in rosa, che è birifrangente.	Idem.
Con la tionina i granuli si vedono tinti in blu, blu verdastro e violaceo, altri incolori (tutti monorifrangenti).	Idem.
Buona parte delle granulazioni formano lacca ematossilinica.	Idem.

Dopo un trattamento di 30 ore in acetone le bolle blu e blu verdi al blu Nilo (monorifrangenti) sono ancora ben colorate. Dopo trattamento con benzolo ed etere ancora alcune granulazioni prendono col blu Nilo, il colore azzurro o il blu verde.	Idem.

c) Cellule granulose delle lacune e zone di rammollimento.

Molte granulazioni e gocciole nonchè cristalli e geodi cristalline tutte birifrangenti. Un'altra parte monorifrangenti.	Idem.
Col blu Nilo grossi accumuli di granulazioni si colorano in blu scuro e verdone scuro (monorifrangenti); altre gocciole piccole e grosse e bolle prendono un color lilla o rosa chiaro, altre rosse e altre incolore (birifrangenti).	Idem.
Con la Tionina le grosse bolle e gli aghi cristallini non si colorano, varie granulazioni si colorano in violetto (buona parte monorifrangenti).	Si notano granulazioni tinte in blu.
Con la fucsina fenica si nota che tutte le granulazioni e bolle hanno assunto, con intensità diversa però, un bel colore rosso cremisi. I cristalli in parte (i piccoli cristalli raggruppati fittamente) hanno assunto un color rosa; altri rimangono incolori. Le bollicine che hanno preso meno intensamente la tinta sono birifrangenti.	Idem.
La maggior parte delle bolle col metodo di Smith rimane giallastra (non forma lacca), prendono il color viola nero soltanto piccole granulazioni isolate o poste negli interstizii delle gocciole o bolle più grosse.	Col metodo delle lacche si nota un discreto aumento delle sostanze che si colorano coll'ematossilina.
Dopo trattamento acetonico sono scomparse le bolle birifrangenti; rimangono ancora gli aghi cristallini e qualche bollicina.	Idem.

d) Fibre midollari della sostanza bianca.

Presentano varicosità e solo in grado modico fuoriuscita di bolle mieliniche. Birifrangenti.	Abbondantissima formazione di bolle e figure mieliniche che sono quasi tutte birifrangenti.
Al blu Nilo le fibre sono di colorito violaceo uniforme.	I rimasugli di fibre sono tinti in violaceo, le bolle in violaceo, a nuances varie, e più cupo.
Con la tionina assumono un bel colorito rosso.	Idem.
Formano lacca ematossilinica.	Idem.
Dopo trattamento acetonico le bolle di mielina hanno lasciato il solo contorno e il resto colorato pallidissimo in celeste col Nilo, i tubi sono pressochè incolori e sono monorifrangenti; così anche dopo trattamento con etere di petrolio, benzolo, alcool e con etere.	Idem.

Corpi amiloidi.

Sia prima che dopo l'autolisi, i corpi amiloidi si colorano col blu Nilo in azzurro chiaro un po'violaceo.

Dopo trattamento acetonico conservano la colorazione azzurro-violacea chiara e dopo trattamento acetonico etere di petrolio si vedono ancora. ma molto più sbiaditi di tinta, e tutto ciò anche dopo l'autolisi.

Approfitto di questi miei dati di confronto dei reperti prima dell'autolisi per poter, prima di entrare nell'argomento degli effetti di questa, confermare ancora in gran parte ciò che dissi nella mia prima nota circa le sostanze lipose nei cervelli senili e arteriosclerotici; innanzi tutto che attorno ai vasi le sostanze che prendono il rosso col blu Nilo non sono le prevalenti ma sono più abbondanti quelle azzurre e verdi, meno le violacee. Nelle cellule grandi del corno d'ammone le granulazioni assumono, col blu Nilo, spesso una tinta violacea anzichè azzurra. Le granulazioni che contengono molto pigmento (corno anteriore del midollo, grandi piramidali) assumono meno il blu Nilo prendendo una tinta intermedia blu-verde. Confermo che nelle cellule granulose, come hanno detto gli altri autori (Kawamura, Roussy e Laroche, Buscaino), esistono molte sostanze birifrangenti in forma di gocciole e cristalli; le gocciole a granula-

zioni prendono col Nilo i colori rosso, blu e violaceo; i cristalli rimangono incolori. Le gocciole birifrangenti permangono quando la permanenza in formalina non sia protratta a lungo. Confermo quanto già dissi nella mia nota precedente che in mezzo a tante sostanze, formano lacca soltanto piccoli granuli aggruppati più o meno irregolarmente. Circa il comportamento coi solventi, confermo i dati recentissimi del Buscaino col quale disaccordo solo per quanto riguarda le sostanze perivasali che egli (astrazion fatta dai vasi lacunari e di zone rammollite) trovò sempre tinte in rosso. Naturalmente non concordo in questo punto neanche colle deduzioni circa la natura delle sostanze colorate.

Passiamo ora a quanto hanno detto gli A. A. circa gli effetti dell'autolisi nel sistema nervoso, limitandoci ai lavori più recenti.

Laignel Lavastine e Jonnesco ritengono che le granulazioni che appaiono nelle cellule di Purkinje in trapianti sottocutanei di cervelletto, siano di natura lipoide e originino in parte da una trasformazione di albuminoidi.

Marinesco basandosi sull'esame al paraboloide Zeiss di cellule dei gangli spinali e simpatici del «locus niger» e corno d'ammone d'uomo e di cane, opina che non vi sia differenza tra la formazione granulare in vita e quella per autolisi.

Tzebinski nell'autolisi asettica (a 37—38°) di midollo spinale di coniglio e cavia e cane, nota che solo in rari casi si può osservare la presenza di inclusioni lipoidi nelle cellule nervose.

Rachmanow ammette che nell'autolisi compaiono, oltre gli acidi grassi, gli eteri glicerinici.

Buscaino ha trovato che nelle cellule nervose di cane normale, mentre subito dopo la morte, col metodo di Ciaccio non si notano granuli, dopo 48 a 96 ore le cellule in maggioranza assumono diffusamente e intensamente il colore arancione. Secondo l'A. «è difficile dire quale sia la ragione intima di questo reperto, se cioè aumentino i lipoidi, se avvenga una trasformazione in questo senso delle sostanze proteiche contenute nel protoplasma cellulare o se le proteine si alterino e lascino quindi quasi isolate e meglio visibili le sostanze grasse.»

Sebbene, soltanto tratti l'autolisi di frammenti di nervi periferici, ricordo pure il recentissimo lavoro di Biondi; egli ha notato, dopo 5 giorni, ovoidi mielinici con distacco di sferule mieliniche; alcune sferule si anneriscono col Marchi. Nelle cellule (di Schwann, dell'epi- e peri- ed endoneuro) qua e là sferule tinte col Ciaccio; fatto che l'A. interpreta come mielinosi postmortale. Non ha mai potuto trovare (anche dopo 15 giorni

di autolisi) sostanze colorabili col metodo di Herxheimer. I corpi di Elzholz e le zolle di Marchi non aumentano coll'autolisi prolungata e l'A. non li considera come prodotti autolitici. Questi reperti sono diversi da quelli che si hanno in vece nella degenerazione Walleriana e nel trapianto (granulazioni tinte coll'Herxheimer, col Weigert Smith; blu col Nilo).

Simon, basandosi su ricerche puramente chimiche, osservò il rapporto fra i prodotti fosforati combinati organicamente e quelli inorganici (solubili in acqua) prima e dopo l'autolisi ed ebbe che aumenta fortemente la quantità dei prodotti inorganici contro quella dei prodotti organici, segno di una intensa scissione dei lipoidi fosforati.

Ancora non è completamente certo il meccanismo dell'autolisi. Due sono le ipotesi che possono spiegarlo; i processi fisico-chimici spontanei (Albrecht); l'azione di particolari fermenti (Launoy); quest'ultima gode le maggiori preferenze e probabilmente è quella che nella maggior parte dei fenomeni autolitici ha luogo.

Alcuni autori hanno tentato di isolare tali fermenti. Coriat, avendo notato sdoppiamento di colina dalla lecitina, tentò di isolare il fermento senza riuscirvi. Altri autori dopo di lui hanno creduto di identificare quel corpo con le perossidasi che si trovano in molti organi fra cui il sistema nervoso (Battelli e Stern, Rosell). Simon accetta questa ipotesi. Anche Pighini trovò un'ossidasi, ma solo nelle cellule nervose. Nel sistema nervoso però solamente Juschtschenko trovò un fermento che scinde il grasso e soltanto Wrobleski un fermento proteolitico e non è stato ricercato se nell'autolisi tali fermenti siano presenti.

Poichè l'autolisi avviene tanto procedendo asetticamente che senza alcuna precauzione contro la putrefazione, bisogna ammettere che gli enzimi siano endocellulari e non provenienti dall'esterno, gli antisettici e il calore agiscono impedendo l'autolisi probabilmente distruggendo la attività o la composizione del fermento. Ciaccio nomina in genere le «proteasi» come fermenti dell'autolisi: «del tutto all'inizio — egli scrive — l'azione della proteasi si produce nel mezzo acido favorevole; i lipoidi del protoplasma sono liberati dai loro legami con le proteine e dello stesso tempo si verifica la medesima cosa pei nucleoproteidi . . . . L'apparizione più o meno tardiva di questi due fenomeni o la loro indipendenza in qualche caso si spiega col fatto dello stato di combinazione più o meno saldo delle proteine con le nucleine e l'acido nucleinico o rispettivamente coi lipoidi. Man mano avanza il processo della autolisi, i fenomeni si accentuano ed entrano in campo altri fermenti come la nucleasi . . . in un secondo tempo forse la azione della proteasi e di altri fermenti è favorita della presenza di lipoidi liberi che, secondo le recenti ricerche di Centanni,

agiscono attivamente sui fermenti. In quanto a un intervento possibile di fermenti della natura delle lipasi, le ricerche di chimici finora non le hanno potute dimostrare.»

Ricordo che nella putrefazione del cervello poi, secondo Nencki, si forma soltanto lo scatolo e poco indolo.

Il diverso comportamento dei lipoidi che si mostrano nell'autolisi di cervelli giovani in confronto con le sostanze lipose contenute negli elementi cellulari di cervelli senili, dimostra che è infondata l'opinione di chi vuol sostenere che la formazione del così detto pigmento giallo in vita sia un puro fenomeno autolitico. Non si deve trattare soltanto di un «rendersi manifesto» di sostanze prima non visibili, ma si deve trattare di un vero aumento delle sostanze lipose e, naturalmente, di origine esogena. Nell'autolisi di cellule nervose non si potranno mai ottenere quegli enormi accumuli di sostanze che si hanno nelle cellule cerebrali di senili e di altre forme patologiche e, senza contare poi che il componente pigmentoso manca nell'autolisi, anche la qualità dei componenti liposi è forse diversa. Che se tanto nell'un caso che nell'altro i processi enzimatici possono essere ugualmente tratti in causa come produttori del fenomeno, nel caso dell'accumulo liposo «intra vitam» la prima causa deve sempre consistere in disturbi metabolici: insieme con un abbassato metabolismo albuminoide si deve avere un abbassato metabolismo liposo con progressivo immagazzinamento di materiali liposi, con successiva formazione di materiale pigmentoso. Tale accumulo probabilmente non deve essere di grave danno, vista la sua grande frequenza e diffusione e certamente non è paragonabile al rigonfiamento con liquefazione e trasformazione granulare della sostanza cromatica, quali si vedono soltanto in gravi processi che colpiscono il sistema nervoso. Non parlo qui dei materiali contenuti nelle cellule granulose che ormai non si può più dubitare siano di natura esogena e cioè accumuli temporanei di materiali in via di regressione che dalle cellule stesse viene trasportato, pur ammettendo il fenomeno attivo di trasformazioni intermedie (Alzheimer, Jacob) delle sostanze che li compongono, prima di entrare nella corrente dei succhi nutritizii. Però molti A. A. adottando la denominazione di «preprodotti» delle sostanze lipoidi, introdotta dall'Alzheimer, specie per le sostanze acidofucsinofile, pare ammettano ancora dei passaggi fra sostanze non grasse e sostanze grasse. Casamajor p. es. a proposito delle sostanze basofilo-metacromatiche ne troverebbe, come prodotto più avanzato, altre tinte in verdastro le quali per ultimo si trasformerebbero in

grasso. Lotmar ammette pure stadii di preprodotti (colorati p. es. dal blu di metile) che segnerebbero il ponte di passaggio fra materiali protoplasmatici e materiali grassi. Biondi però recentemente avrebbe identificato i corpuscoli acido-fucsinofili col condrioma e, pur ammettendo un rapporto fra essi corpuscoli e il «pigmento grasso», afferma che «la trasformazione dei granuli fucsinofili in granuli di pigmento non deve essere intesa nel senso che i granuli fucsinofili siano dei prodotti del metabolismo cellulare destinati a trasformarsi ulteriormente (Präprodukte); in vece si tratta di organi cellulari i quali si caricano ed eventualmente trasportano dei prodotti di disfacimento». In quanto poi ai medesimi corpuscoli che in date circostanze sperimentali (interruzione di circolo) si notano in quantità molto notevole, egli dice che possono ammettersi due ipotesi; o che i condriosomi subiscano modificazioni fisiche o che pure si tratti di prodotti di disfacimento della stessa composizione chimica di quelli.

Noi dovremmo dunque ammettere che i così detti «preprodotti» consistano soltanto di mescolanze di materiali lipoidi e di materiali proteici endocellulari che vengono man mano separandosi; il disfacimento proteico è probabilmente più rapido come anche il suo meccanismo di eliminazione, i materiali essendo di una solubilità maggiore possono per ciò direttamente passare nelle vie linfatiche senza l'intermediario di elementi cellulari di trasporto, se si eccettui alcuni materiali (fibrinoidi?) che possono essere trasportati da quelli insieme con i prodotti liposi i quali in vece hanno un processo di eliminazione più lento e con l'intermediario degli elementi cellulari di trasporto. Poichè i mezzi coloranti possono colorare contemporaneamente prodotti liposi e proteici diversi, si puo giungere a interpretazioni inesatte, giudicando alcune sostanze come preprodotti di altre. Noi dobbiamo quindi accettare tale denominazione di preprodotti soltanto nel senso che vi sono composti molto complessi (fosfatidi, cerebrosidi) che possono sdoppiarsi nei loro componenti di cui alcuni si colorano con dati mezzi, altri no; ma dovremo sempre tener presente che dai proteidi non avremo mai formazione di grasso direttamente; e che soltanto esiste la possibilità di una scissione di composti proteidi e liposi esistenti in legami (più o meno lassi) o in mescolanze. L'autolisi non agisce che ben scarsamente sui materiali liposi endocellulari; anche nelle mie esperienze non sono riuscito a ottenere notevoli modificazioni; soltanto qualche volta ho notato una confluenza e aumentata colorazione in blu col Nilo nelle sostanze delle cellule del corno d'ammone e soltanto una notevole diminuzione della facoltà di formare lacca ematossilinica delle medesime; invece tale facoltà sembra aumentare alquanto nelle sostanze delle cellule granulose lacunari.

Le guaine mieliniche mostrano un disfacimento il quale, però, è più meccanico che chimico; infatti assistiamo alla formazione di bolle e figure mieliniche dovute al liberarsi della «mielina» dai tubi nervosi, ma le reazioni coloranti e la solubilità come la birifrangenza non si mostrano molto diverse dalla mielina prima della autolisi.

Soltanto una azione prolungata e l'elevata temperatura (nonchè l'azione di speciali condizioni d'esperienza: antisettici, soluzioni adoperate, microorganismi nell'autolisi non asettica) possono agire più intensamente con la scissione di sostanze più semplici dalle più complesse che si manifestano, come nelle esperienze di Simon, con la progressiva prevalenza dei materiali fosforati inorganici su quelli organici (disfacimento dei lipoidi fosfatidi).

Nella autolisi necrobiotica, dagli eteri colesterinici e glicerinici probabilmente si ha scissione di colesterina e acidi grassi. Negli antichi focolai emorragici si trovano infatti i cristalli di colesterina mentre i materiali grassi e lipoidei sono scomparsi. Ma nei processi necrobiotici non si può escludere l'azione delle correnti nutritizie delle zone confinanti. La colesterina poi ha un grande potere di resistenza ed è noto come essa forma parte non indifferente nei focolai arteriosclerotici, permanendovi lungo tempo. Nell'organismo la colesterina subirebbe ancora dei processi di disintegrazione; vi dev'essere probabilmente un rapporto fra essa e gli acidi biliari (Serono). Secondo Traetta, «in vitro» il fegato fresco avrebbe la capacità di formare acido urico dalla colesterina. È poi dimostrato che, per ossidazione con acido nitrico, la colesterina può dar origine ad acido butirrico; secondo Serono non sarebbe impossibile che da questo passasse poi in acido urico. Ma probabilmente nel sistema nervoso necrobiotico mancano fattori sufficienti per tale trasformazione. Nell'autolisi asettica l'azione enzimatica non è capace di intaccare la colesterina e forse neppure i suoi eteri, mentre ciò potrà avvenire coi processi putrefattivi.

Gli eteri glicerinici nell'autolisi probabilmente non danno luogo a formazione di acidi grassi; mentre ciò, come dissi, deve avvenire dei processi necrobiotici e anche nei fenomeni putrefattivi.

Circa la parte pigmentosa delle sostanze lipose non si hanno grandi nozioni per quanto riguarda il sistema nervoso, e molti ancora si accontentano di nominare o il lipocromo, o il pigmento giallo oltre il pigmento bruno.

Secondo Rieder i pigmenti grassi chiamati lipocromi (Neumann) sarebbero costituiti da acidi grassi e loro glicosidi; secondo Cotte Jules essi rientrerebbero nel gruppo delle sostanze colesteriniche. Secondo

Willstätter e Escher la luteina (pigmento analogo del tuorlo d'uovo) non è che un prodotto di ossidazione della carotina o xantofilla; invece Serono ha stabilito che la luteina non è che una miscela costituita principalmente di eteri oleici e palmitici della colesterina e che il pigmento giallo è dovuto al processo di ossidazione degli eteri della colesterina con acidi non saturi; egli poi conferma che la luteina rappresenta, nell'ossidazione, un prodotto di regresso come nella maggior parte dei lipocromi che accompagnano i grassi animali.

L'autolisi non ha mostrato nè di diminuire la pigmentazione gialla nè di aumentarla in modo sensibile là dove i cumuli lipoidi erano poco pigmentati e là dove esistono in copia gli eteri colesterinici.

È detto che i lipocromi si sciolgono in etere, alcool, benzolo, cloroformio, trementina ecc.; però noi vediamo che il pigmento giallo resiste anche nei metodi in cui si fa inclusione in alcool e passaggi in alcool e xilolo. Abbiamo anche veduto che dopo l'estrazione acetonica, alcoolica, eteropetrolica ed eterea il fondo giallastro rimane ancora evidente. Quindi, almeno per quanto riguarda gli elementi nervosi, bisogna ammettere che tale pigmento sia invece resistentissimo ai solventi. Ho potuto notare che anche la lunga conservazione in formolo non modifica la colorazione propria del pigmento, mentre le granulazioni perdono in gran parte la facoltà di tingersi coi coloranti. Rachmanow e Biondi, avendo essi pure notato la resistenza ai solventi degli accumuli pigmentati, ritengono che ciò dipenda appunto da un solido legame fra lipoidi e pigmenti.

In quanto ai pigmenti blu verdastri e verdi (al Nilo e alla toluidina) che si trovano nelle guaine vasali essi devono ritenersi di natura ematica (Bonfiglio); sono resistentissimi alla conservazione in formolo, ai solventi, all'autolisi. Essi nulla hanno a che fare con i corpi liposi ed hanno per ciò un altro significato; probabilmente parecchie delle granulazioni tinte in verde che alcuni Autori ritengono come «fasi» ulteriori di passaggio dei «preprodotti» alle sostanze grasse, sono appunto costituite da questa specie di pigmenti.

I corpuscoli amiloidi si sono pure mostrati non alterati dall'autolisi ed essi allo stesso modo si sono mostrati resistenti ai solventi (acetone, etere di petrolio) tanto prima che dopo dell'autolisi. Tali corpi possiamo escludere contengano colesterina e suoi eteri (resistenza ai detti solventi; formazione di lacche ematossiliniche). A questo punto voglio aggiungere che la stessa cosa si puo ripetere per certe formazioni che assumono forma di bolle più o meno grandi attornianti a manicotto i vasi e colorantisi con molti metodi, fra cui fortemente in blu col Nilo, e che Perusini[1])

[1]) Folia Neurobiologica 5—6. 1912.

descrisse in varie forme (idiozia. arteriosclerosi, paralisi progressiva) e che identificò come materiale contenente ferro ma non calce. Tali corpi descrissi[1]) io pure (del corno d'ammone) in un caso di presbiofrenia e, poichè anche in uno dei casi di demenza senile che qui mi ha servito ebbi modo di notarli pure attorno ai vasi del corno di ammone, potei così verificare che non si alterano coll'autolisi, mantenendo le medesime caratteristiche (monorifrangenza, colorazione intensa blu col blu Nilo, viola colla toluidina) e che dopo il passaggio nella serie dei solventi (acetone, etere di petrolio, benzolo. alcool, etere) rimangono ancora completamente colorati.

Modifico ora la mia opinione allora espressa e non giudico più tali corpi come corpuscoli amiloidi, diversi essendo gli aspetti di colorazione (nuance, intensità) allorchè si confrontino fra loro.

Concludendo, si può dire che:

L'autolisi mette in evidenza negli elementi cellulari nervosi di animale giovane una quantità di materiali lipoidi più scarsa in confronto con gli accumuli che si trovano nelle forme morbose e in soggetti di età avanzata.

I materiali differiscono anche per le loro proprietà istologiche. Nell'autolisi non si ha formazione di materiale pigmentato: le granulazioni semplicemente autolitiche sono minute ed uniformi. La formazione delle sostanze grasse dei cervelli senili e patologici deve ritenersi in buona parte esogena cioè aggiunta, e sotto forma già evidente, a quella che è normalmente presente nella cellula e che si rende evidente solo coll'autolisi. Esse sostanze poi non vengono modificate (istologicamente) in modo sensibile dall'autolisi.

Le modificazioni autolitiche delle sostanze lipose della sostanza bianca sono prevalentemente di natura meccanica nel senso che si libera la «mielina» per disfacimento degli elementi proteici organizzati delle fibre nervose.

In genere i materiali lipoidei e sterinici hanno un forte potere di resistenza verso i processi autolitici; i lipoidi di natura fosfatidica e cerebrosidica subiscono modificazioni, mentre gli eteri colesterinici, le sterine, i grassi e gli acidi grassi molto probabilmente non sono modificati.

Gennaio, 1914.

---

[1]) Riv. di Patologia nervosa e mentale. 5. 1913.

Autori consultati.

Allers. Beiträge zur Chemie des senilen Gehirns. Zeitschr. f. ges. Neurol. und Psych. Juni 1911.

Alzheimer. Beiträge zur Kenntnis der pathol. Neuroglia. Nissl-Alzheimers Arbeiten 1910.

Biondi. Sul cosidetto pigmento giallo dei centri nervosi. Riv. ital. di neuropat. psich. 6. 1913.

—— Sul significato dei corpuscoli fucsinofili delle cellule nervose. Ibidem. 9. 1913.

—— Trapianto sopravvivenza «in vitro» ed autolisi dei nervi periferici. Ibidem. 12. 1913.

Busana. L'apparato mitocondriale nelle cellule nervose adulte. Anat. Anzeiger. p. 620. 1912.

Bonfiglio. I prodotti di disfacimento basofilo-metacromatici. Nissl-Alzheimers Arbeiten. 1913.

Buscaino. Grassi, sterine e lipoidi nel s. nervoso centrale ecc. Riv. di pat. nervosa e mentale. 11. 1913.

Casamajor. Über das Vorkommen basophil-metachromatischer Stoffe im Centralnervensystem. Nissl-Alzheimers Arbeiten. 1913.

Ciaccio. Les lipoïdes intracellulaires. Bibl. médicale (Bibliografia). p. 275. 1912.

D'Agata. Perturbazione del metabolisimo cellulare dei grassi (Bibliografia). Pavia 1911.

Grey and Egerton. The fatty acids of the humain brain. Bioch. journal. 7. 1913. Rif. in Zeit. f. ges. Neurol. u. Psych. 1913.

Kawamura. Die Cholesterinesterverfettung (Bibliografia). Jena 1911.

Kraus. Die Lipoidsubstanzen der menschl. Hypophyse. Zieglers Beiträge. S. 520. 1912.

Luna. I lipoidi nelle cellule nervose. Folia Neurobiol. 6. 1912.

—— I condriosomi delle cellule nervose. Anat. Anz. 1913.

Laignel Lavastine et Jonnesco. Nouv. récherches sur les lipoïdes des cellules de Purkinje. C. R. de la Soc. de Biol. 1912.

—— Dégéneration lipoïde de la cellule de Purkinje. Ibidem.

Marinesco. Sur la structure colloidale des cell. nerveuses. III. Congr. de Neurol. Gand. Aout 1913 e C. R. Soc. de Biol. LXXII.

Nageotte. Mitochondries du tissu nerveux. C. R. de la Soc. de Biol. Mai. 1909.

Rachmanow. Zur Kenntnis der im Nervensyst. phys. vorkommenden Lipoide. Zieglers Beiträge. Bd. LIII. 1912.

Roussy et Laroche. Sur la différenciat. élective des div. substances graisses. etc. C. R. de la soc. de Biol. Vol. LXXII. 1912.

Serono. Sulla costituzione della luteina. Arch. di farmacologia e scienze affini. XI. Vol. XIV.

—— Funzione biologica e terapeutica della colesterina. Rassegna di Clinica e terapia. 3. 1913.

Serono e Palozzi. Sui lipoidi contenuti nella sost. nervosa. Arch. di farmacol. sperimentale. Vol. XV. 1913.

Simon. Zur Kenntnis der Autolyse des Gehirns. Hoppe-Seylers Zeitschr. Bd. LXXII. 1911.

Stürmer. Die Corpora amylacea des Centralnervensystems. Nissls-Alzheimers Arbeiten. Bd. V. 1913.

Trzebinski. Beitrag zur Morphologie der Nervenzellen bei der Autolyse des Rückenmarks. Folia neurob. 1912.

Venuti. Sulla formazione di grassi nei processi di decomposizione cadaverica. Pathologica. 15. 1913.

Weil. Die Chemie des Gehirns. Sammelreferat. Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psych. Ref. VII. 1. 1913.

Ziveri. Über die Natur des lipoiden Abbaustoffe des Centralnervensytems etc. Folia Neurobiol. 9. 1912.

Zur Kenntnis der heterotypischen Kernteilung.

Von

Henrik Lundegårdh.

Mit Tafel IV.

Vor 6 Jahren habe ich eine Arbeit über die prophasischen Vorgänge in der ersten Reifungsteilung bei einigen phanerogamen Pflanzen gemacht. Das Ergebnis der Untersuchung war, daß dabei paarige Bildungen (Fäden oder Karyosomen) auftreten, die Entstehung zu dem heterotypischen Spirem geben. Diese präspirematischen paarigen Bildungen wurden mit den in dem postspirematischen sogenannten Strepsinemastadium auftretenden Doppelschlingen identifiziert. Diese Doppelschlingen besaßen die reduzierte Zahl und meine Befunde erbrachten folglich eine Bestätigung der Theorie der »zygoténie pseudoréductionelle« [Grégoire[1])]. Im Zusammenhang mit meinen Untersuchungen über die typische Kernteilung wurden die Reduktionsteilungsstudien aufgenommen, doch nur um Stoff zu liefern zu den theoretischen Ausführungen über typische und heterotypische Mitose in meiner Abhandlung »Über das Karyotin im Ruhekern und bei der Bildung und Auflösung der Chromosomen«[2]).

Meine Untersuchungen über die typische (somatische) Kernteilung ergaben als Hauptergebnis die große Verbreitung dualistischer Anordnungen im Karyotin. Nicht nur in der Metaphase, sondern in Ruhekern, Interphase, Prophase und Telophase waren doppelte Chromosomen bzw. Karyosomen oder Karyotinschlingen zu beobachten und ich führte diese auffallende Erscheinung auf ein allgemeines dualistisches Prinzip im Karyotin zurück. Seitdem sind diese Ergebnisse betreffs eines der unter-

[1]) V. Grégoire, Les Cinèses de maturation dans les deux règnes. La Cellule. T. XXVI. p. 280. 1910.

[2]) Archiv f. Zellforsch. Bd. IX. S. 205. 1912.

suchten Objekte, *Allium cepa*, durch die Untersuchungen von Schustows[1]) bestätigt worden[2]).

Es leuchtet ohne weiteres ein, daß die Entdeckung der großen Verbreitung von Spaltungs- oder Paarungsvorgängen im Karyotin in der somatischen Teilung für die Auffassung der heterotypischen Vorgänge von Bedeutung ist. Denn der Vergleich der beiden Teilungsarten ergab jetzt, daß sie morphologisch sehr ähnlich sind. Auch in der vegetativen Prophase werden paarig angeordnete »filaments minces« (Grégoire) beobachtet (vgl. die Figuren auf Taf. XVIII in meiner eben zitierten Abhandlung). Schon vor mehreren Jahren wurde u. a. von Meves[3]) auf die große morphologische Übereinstimmung der beiden Prophasen hingewiesen und daraus von ihm der Schluß gezogen, daß es überhaupt keine Zygotenie gäbe, sondern daß die Reduktion nur in einer andern Zerstückelung des (als einheitlich aufgefaßten) Spiremfadens bestände. Neuerdings wird diese skeptische Auffassung der Reduktionsteilung von dem erwähnten von Schustow geteilt.

Eine Sache ist hier klar: Das bloße Vorhandensein von »parallelen Fäden« oder »Doppelkaryosomen« beweist keine Zygotenie. Aber ebenso einleuchtend ist es, daß die Doppelbildungen in der somatischen Prophase keinen Beweis gegen die Zygotenie erbringen. Man muß eben heute andre Beweisgründe aufsuchen.

In meiner erwähnten Abhandlung 1912 habe ich als solche die bemerkenswerten Untersuchungen Rosenbergs an *Drosera* und *Crepis*

---

1) Über Kernteilungen in der Wurzelspitze von *Allium cepa*, Arch. f. Zellforsch. Bd. XI. S. 340. 1913.

2) *Vicia faba* wurde von Lester W. Sharp, einem Schüler Grégoires, einer erneuten Untersuchung unterzogen (Somatic chromosomes in *Vicia*, La Cellule, T. XXIX, p. 297, 1913). Grégoires bekanntes Schema wird hier aufs neue verteidigt. Da es aber für Sharp offenbar angenehmer ist, die Meinung des Lehrers, statt eines eigenen Urteils, vorzutragen, ist diesen Ausführungen nicht sehr viel Wert beizulegen. Meine Auffassung wird durch „the omission of the finer details and an incomplete avoidance of schematism" erklärt. Es ist wirklich hart zu hören, daß man schematisiert, wenn man bemüht ist, die Sachen so wie sie aussehen, zu zeichnen und nicht urteilslos gewisse elegante Fixierungsbilder aussucht. Übrigens scheint Sharp (und andre) vergessen zu haben, daß ich gegenwärtig der einzige bin, der seine Objekte zugleich im lebenden Zustande untersucht hat. Da ich immer die fixierten und gefärbten Präparate auf die Grundlage der hierdurch gewonnenen Erkenntnis beurteilt habe, scheint es mir wirklich, als ob ich selbst eine etwas bessere Einsicht in dem, was hier gut und schlecht fixiert ist, besitze wie diejenigen, die die gelungene Fixation nur ganz schlendrianmäßig nach der »Schönheit« der Präparate abschätzen.

3) Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene (*Apis mellifica*) nebst Bemerkungen über Chromatinreduktion. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX. 1907.

aufgeführt. Namentlich in *Crepis virens* liegen die Verhältnisse so klar, daß man nicht an der Richtigkeit der Beobachtungen zweifeln darf. Die Pflanze besitzt nur sechs Chromosomen. In den ruhenden somatischen Kernen sind sechs Karyosomen (Prochromosomen) zu sehen. Diese Karyosomen nehmen eine zerstreute Anordnung an. In den Gonotokonten sind sie aber deutlich paarweise aneinander genähert. Die weiteren Vorgänge in der heterotypischen Prophase verlaufen in der bekannten Weise, daß die Karyosomen sich zu gepaarten Fäden entwickeln, die endlich die Doppelchromosomen der Diakinese darstellen.

Die chromosomenzähligen Karyosomen sind meiner Meinung nach ein deutlicher Beweis dafür, daß die Chromosomenzahl in einer erblich bestimmten Aufteilung des Karyotins begründet ist, und daß diese stoffliche Verteilung oder Lokalisation auch in den Ruhekernen (beim *Capsella-Cucurbita*-Typus) zum Vorschein kommt. In den ruhenden vegetativen Kernen von *Cucurbita* kommen 24 ungepaarte Karyosomen vor: diese sind zuweilen längsgespaltet; aus demselben entwickeln sich in der Prophase die Chromosomen.

Leider bin ich nicht in der Lage, eigne Untersuchungen über das Verhalten des *Cucurbita*-Typus bei der heterotypischen Teilung mitzuteilen. Ich muß daher betreffs des hierüber vorher Bekannten auf Rosenbergs Untersuchungen, sowie auf meine früheren Befunde an *Calendula officinalis* und *Achillea millefolium*, verweisen[1]).

Betreffs des *Cucurbita*-Typus (mit chromosomenzähligen Karyosomen im Ruhekern) besteht also ein morphologischer Unterschied zwischen den allerfrühesten Stadien der typischen und der heterotypischen Teilung. Und dieser morphologische Unterschied (Paarung von Karyosomen) ließe sich als eine sehr frühzeitig stattfindende »zygoténie pseudoréductionelle« deuten. Doch wären neue Untersuchungen hier sehr erwünschenswert. — Wie steht es nun mit den Kernen, die keine chromosomenzähligen Karyosomen besitzen (*Allium*-Typus, *Faba*-Typus)?

Nachdem von andern und von mir auf das regelmäßige Vorkommen von Doppelstrukturen in sehr frühen Stadien der somatischen Teilung aufmerksam gemacht worden ist, beweisen die früher hierüber angestellten Untersuchungen (welche sich alle mit einer Ausdifferenzierung von Doppelfäden beschäftigen) häufig sehr unzureichend, daß eine Paarung von Chromososomensubstanzen stattfände. Um ein konkretes Urteil zu bekommen, habe

---

[1]) Rosenberg, a. a. O. 1909; Cytologische und morphologische Studien an *Drosera longifolia × rotundifolia*. Kungl. Svenska Vet. Akad. Handl. Bd. XLIII. Nr. 11. Lundegårdh, Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger dikotyler Pflanzen. Svensk. botan. Tidskr. Bd. III. 1909. S. 78.

ich neue Untersuchungen über die heterotypische Teilung bei den Ranunculaceen (deren Kerne *Allium*-Typus besitzen) angestellt. Unter anderm wurde dabei mein früheres Objekt, *Trollius europaeus*, einer erneuten Untersuchung unterzogen, und das Ergebnis will ich jetzt mitteilen.

In den Hauptzügen wurden meine früheren Befunde bestätigt[1]). Die Aufmerksamkeit wurde namentlich auf das in Fig. 34, Taf. II, in meiner erwähnten Abhandlung abgebildete Stadium gerichtet. Es ist die frühe Prophase, in dem Augenblick, wo die Doppelfäden klar hervorzutreten beginnen. Wie ich damals erwähnt habe[2]), besitzen die Doppelfäden ganz freie Enden. Doch war es mir nicht gelungen, die Zahl derselben festzustellen. Heute bringe ich in Fig. 1 einen derartigen Kern, wo die ebenfalls frei liegenden Doppelbildungen gezählt werden können. Man findet deren etwa zehn; da sich in einem folgenden Schnitt noch ein kleineres Stück des Kernes befand, schließe ich hieraus, daß die Zahl der Doppelschlingen mit der haploiden Chromosomenzahl übereinstimmt; diese ist nämlich bei *Trollius* 11 bis 12.

Der in Fig. 1 abgebildete Kern zeugt davon, daß es mir gelungen ist, was Grégoire (a. a. O. 1910, S. 339) für «extrêmement difficile, pour ne pas dire impossible« hält, nämlich die Zahl der «anses leptotènes» zu bestimmen.

Im Stadium Fig. 1 ist also die Chromosomenreduktion schon vollzogen. Denn es begegnet keinen Schwierigkeiten nachzuweisen, daß die hier abgebildeten Doppelschlingen sich zu den Doppelchromosomen (gemini) der Diakinese entwickeln. In Fig. 2—4 sind spätere Stadien, »Synapsis«stadien, abgebildet. Auch hier sind freie Enden zu beobachten, obwohl die Chromosomen recht lang und miteinander verschlungen sind. Namentlich aus Fig. 3, die ein etwas späteres präsynaptisches Stadium wie Fig. 2 darstellt, ersieht man die morphologische Selbständigkeit der Doppelfäden.

Diese Befunde sind in gutem Einklang mit meinen Befunden über die somatische Teilung. Auch hier sind nämlich die Chromosomen frühzeitig als morphologische Individuen ausgebildet (vgl. z. B. Fig. 29, 31, 34, Taf. XVIII, in meiner Abhandlung, a. a. O. 1912). Später, im Spiremstadium, werden sie wohl nicht selten mit den Enden verklebt. Namentlich betreffs der heterotypischen Teilung wurde ja schon wiederholt auf das Vorhandensein derartigerChromosomenketten, bzw. »ungeteilter« Spireme, hingewiesen. Übrigens verliert die Frage des »geteilten oder kontinuierlichen Spirems« ihre Aktualität, seitdem nachgewiesen worden ist, daß

[1]) Lundegårdh, a. a. O. 1909.

[2]) a. a. O. 1909. S. 102.

schon vor dem Spiremstadium die Chromosomen-»Anlagen« die richtige Zahl besitzen (vgl. oben und meine Abhandlung 1912).

Grégoire (a. a. O. 1910, S. 339) legt großes Gewicht auf die Anzahl der «anses pachytènes» und er findet Beweise dafür, daß sie in der reduzierten Zahl vorkommen. Ich zweifle nicht an der Richtigkeit dieser Angaben, doch findet man sicher auch Fälle mit mehr oder weniger schwankenden Zahlen, auf Endverklebungen beruhend. Den besten Beweis liefert natürlich die Zählung der «anses leptotènes», denn daß sie, wie wir es gefunden haben, in der reduzierten Zahl vorkommen, beweist, daß das Phänomen der Zahlenreduktion als Faktor in den ganzen Mechanismus der Chromosomenbildung eingreift.

Damit scheint die »end-to-end-«Theorie Farmers und Moores und andrer («pseudoréduction métasyndétique», Grégoire, 1910) endgültig widerlegt zu sein. Übrigens habe ich schon 1909 den Begriff »second contraction« aufgelöst, indem ich zeigte, daß derartige Figuren ihren Grund darin haben, daß die Doppelchromosomen bei der starken Verkürzung vor der Diakinese sich umeinander verschlingen[1]); außerdem spielt wohl schlechte Fixierung hier keine unbedeutende Rolle.

Wie nun diese präsynaptische Reduktion zustandekomme, das kann schwerlich auf direktem morphologischem Wege ergründet werden. Doch möchte ich hier auf die große prinzipielle Übereinstimmung, bei bestehenden morphologischen Verschiedenheiten, zwischen dem *Calendula*-, *Cucurbita*-, *Crepis*-Typus und dem *Allium*-Typus hinweisen. Denn auch bei dem erstgenannten Typus geschah die Reduktion sehr frühzeitig. Ja, man konnte sie hier sogar im ruhenden Gonotokontenkern spüren. Es liegt daher nahe zur Hand, per analogiam dasselbe für *Trollius* zu behaupten. Meine Theorie der heterotypischen Teilung (a. a. O. 1912, S. 309ff.) bleibt daher nicht »rein hypothetisch und höchst willkürlich«, wie von Schustow[2]) meint. Sie ist im Gegenteil die einzige, die die Tatsachen über typische und heterotypische Teilung in Einklang zu bringen versucht. Und ein derartiger Versuch, wenn er nicht so aufs Geratewohl hingeworfen ist, verdient wohl ein besseres Schicksal als ohne weiteres heruntergemacht zu werden. Übrigens verstehe ich nicht, daß man sich gegen die Theorie der präsynaptischen Reduktion[3]) ganz verschließen

[1]) a. a. O. 1909. S. 108ff.

[2]) Über Kernteilungen in der Wurzelspitze von *Allium cepa*. Arch. f. Zellforsch. Bd. XI. 1913. S. 384.

[3]) Ich habe in meinen seit 1910 erschienenen Arbeiten niemals von einer »parallelen Konjugation« gesprochen. Paarung von Chromosomensubstanzen ist doch ein allgemeinerer Begriff, denn Dinge können wohl gepaart werden ohne miteinander zu verschmelzen.

kann, wenn doch, außer den oben erwähnten, folgende Argumente zu ihren Gunsten sprechen.

1. Die auf verschiedene, hier nicht nochmals zu erwähnende Tatsachen bauende Theorie der stofflichen Heterogenität des Karyotins, welche Heterogenität sich morphologisch in konstanten oder wenig schwankenden Chromosomen- (bzw. unter Umständen Karyosomen-)zahlen kenntlich macht[1]).

2. Die zum Teil im Zusammenhang mit dieser Theorie stehende und durch die cytologischen Untersuchungen Rosenbergs an *Drosera rotundifolia* × *longifolia* sehr wahrscheinlich gemachte Lehre von zwei Elternkaryotinen.

3. Der Parallelismus zwischen dem Verhalten der Chromosomen bei der Geschlechtszellenbildung und dem Mendelschen Spaltungsgesetz.

Es liegt kein Grund vor, meinen 1912 eingenommenen theoretischen Standpunkt zu verändern. Ich nehme also wie damals an, daß im Karyotin eine ausgesprochene dualistische Tendenz besteht, die einen solchen morphologischen Ausdruck nimmt, daß alle »Erscheinungsformen« des Karyotins gern Doppelanordnungen (Spaltungen, Paarungen) annehmen. Diese dualistische Tendenz bezieht sich aber nur auf identische oder einander sehr ähnliche »Karyotinsubstanzen« (vgl. Punkt 1 oben). Deshalb sind die Chromosomen gespalten und deshalb paaren sich »homologe« Chromosomen der beiden Elternkaryotine. Denn die beiden Hälften eines Chromosoms sind identisch und zwei homologe Chromosomen von je einem Elter sind einander sehr ähnlich. Normalenfalls paaren sich nur die identischen Substanzen: Dann haben wir typische Teilung. In bestimmten Geweben paaren sich statt dessen, oder besser außerdem die einander sehr ähnlichen Substanzen: Dann tritt heterotypische Teilung und Reduktion ein.

Obwohl in beiden Fällen die Teilungsmechanik in den Hauptzügen dieselbe ist, bestehen einige dem verschiedenen Stoffinhalt der »Doppelchromosomen« entsprechende Verschiedenheiten.

Erstens könnte man wohl auch beim *Allium*-Typus einen geringfügigen morphologischen Unterschied in den präsynaptischen Stadien darin erblicken, daß die Hälften der Doppelfäden etwas freier liegen wie in der frühen Prophase der typischen Teilung (vgl. Fig. 1, 2). Einige zoologische Forscher (v. Winiwarter, A. u. K. E. Schreiner u. a.)

[1]) Näher ausgeführt ist die Theorie bei Lundegårdh, Chromosomen, Nucleolen und die Veränderungen im Plasma bei der Karyokinese. Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanz. Bd. XI. 1912. S. 426ff.

haben sogar die Sachen so abgebildet, daß die zwei Fäden von verschiedenen Seiten kommen und dann zusammenlaufen.

Zweitens pflegen die Stadien vor dem fertigen Spirem in den beiden Teilungsarten verschieden auszusehen. Zwar hat man synapsisähnliche Figuren auch im vegetativen Gewebe beobachtet (Lagerberg) und viele »Synapsisknäuel« sind wohl durch die Fixierung entstanden, ich bin aber überzeugt davon, daß hier eine Verschiedenheit wirklich besteht. Man hat auf eine erhöhte »Empfindlichkeit« der dünnen Synapsisfäden, auf osmotische Erscheinungen (Lawson) geraten. Meiner Meinung nach besteht der Unterschied zwischen Synapsis und entsprechenden Stadien bei der typischen Teilung darin, daß die Chromosomen hier eine gewisse Vorliebe für die periphere Lage an der Kernmembran aufweisen. Gewisse Wechselbeziehungen zwischen Karyotin und Plasma scheinen zu bestehen, so daß das Karyotin an die Peripherie des Kernes gezogen wird. Gegen diese Peripheriestellung wirken natürlich andre Verhältnisse, so daß namentlich in jungen Stadien und bei langen Schlingen auch das Innere von denselben durchzogen wird. Doch kommt die Membranstellung in typischen Prospiremkernen um so deutlicher zum Ausdruck, je kürzer die Chromosomen sind (*Cucurbita*). In der Synapsis findet man von dieser Membranstellung keine Spur. Die langen Chromosomenfäden laufen im Gegenteil in vielen Windungen durch das Kerninnere und ballen sich wohl unter Umständen auch zusammen. Im Zusammenhang mit diesem regellosen Verhalten der Synapsischromosomen steht der Mangel an einer bestimmten Orientierung derselben[1]). Denn die bekannte Orientierung der Chromosomen in der typischen Prophase beruht wenigstens zum Teil auf durch stoffliche Wechselbeziehungen unbekannter Art bedingten Symmetrieverhältnissen[2]). Das »normale« Verhalten der heterotypischen Chromosomenschlingen kehrt erst nach der Pachynemaphase, d. h. im Strepsinemastadium zurück. Die kurzen Chromosomen der Diakinese nehmen immer die Peripheriestellung ein.

Welche stofflichen Verhältnisse dieses merkwürdige Verhalten des heterotypischen Prospirems bedingen, wissen wir nicht. Die Synapsis ist in der Regel die längste Phase der Teilung und nach der Meinung vieler Forscher findet hier eine Verlängerung, ein »Ausspinnen« der Karyotinfäden statt. Andre Beobachtungen (u. a. der erwähnte Befund

---

[1]) In tierischen Objekten findet man wohl eine deutliche Orientierung der Prophasechromosomen, die doch hier vom Centrosom ausgeht. Übrigens ist die Synapsis in diesen Objekten bekanntlich wenig hervortretend.

[2]) Vgl. Lundegårdh, Zur Mechanik der Zellteilung. Svensk. botan. Tidskr. Bd. VIII. 1914. S. 161.

Lagerbergs) sprechen dafür, daß der Synapsischarakter des dünnen Spirems unter geeigneten Verhältnissen auch im vegetativen Gewebe auftreten kann. Interessant sind in dieser Hinsicht die Befunde Tröndles in *Spirogyra*[1]). Er findet nämlich synapsisähnliche Kontraktionsstadien in den beiden aneinander liegenden, noch nicht verschmolzenen Gametenkernen. Die synaptische Kontraktion dürfte folglich kein Merkmal der heterotypischen Mitose sein.

Dagegen darf man wohl sagen, daß die Länge dieses Stadiums und seine morphologischen Merkmale kein Gegenstück in der somatischen Mitose besitzen. Die morphologischen Merkmale entspringen, wie oben erwähnt, aus dem Umstande, daß die Chromosomen die Wandstellung verlassen und folglich die »Orientierung«, die sie in somatischen Mitosen besitzen, aufgeben. Martins Mano hat auch die Flächenstellung der somatischen Chromosomen beobachtet und Grégoire bemerkt richtig, daß diese in dem Synapsisstadium verschwindet. Doch interpretiert er (a. a. O. 1910, S. 334) meiner Meinung nach die Sache falsch, wenn er das Phänomen auf die Paarung der Fäden zurückführt. Denn die Paarung findet in einem früheren Stadium statt (vgl. Fig. 1). Die Ursache der Synapsis dürfte daher physiologisch sein.

Als ein bemerkenswerter Unterschied zwischen typischer und heterotypischer Teilung ist hervorzuheben, daß in der typischen Prophase die beiden Hälften der Chromosomen sich niemals separieren (auch nicht unter abnormen Bedingungen, vgl. a. a. O. 1914). In der Diakinese kommt es aber nicht selten vor, daß die beiden Glieder eines Paares auseinanderzweigen oder sogar voneinander etwas getrennt werden. Derartige Chromosomenfiguren werden in typischen Teilungen, erst wenn die Chromosomen unter abnormen Verhältnissen frei im Plasma liegen, erzeugt (vgl. Svenks botan. Tidskr. Bd. VIII, 1914, S. 174).

Die Wandstellung der Chromosomen in der Diakinese kommt auch in typischen Mitosen mit kurzen Chromosomen (*Cucurbita*) vor. Daß die Chromosomen der heterotypischen Teilung andre Gestalten anzunehmen pflegen wie die typischen Chromosomen, hängt wohl mit den besonderen Bedingungen zusammen, die während der Teilung herrschen. Doch gelingt es nach Untersuchungen von Němec[2]) und von mir[3]), durch äußere Eingriffe auch die Gestalt der vegetativen Chromosomen weit-

---

[1]) A. Tröndle, Über die Reduktionsteilung in den Zygoten von *Spirogyra* und über die Bedeutung der Synapsis. Zeitschr. f. Botanik. Jahrg. 3. 1911. S. 614.

[2]) Němec, Das Problem der Befruchtungsvorgänge. Berlin 1910. Kap. XIII.

[3]) Lundegårdh, a. a. O. 1914.

gehend zu verändern. Durch Behandlung mit Benzindämpfen (Němec) oder Chloralhydrat nehmen z. B. die Chromosomen bei *Vicia faba*, die normalerweise sehr lang und schleifenförmig sind, eine an die »Paare« in der Diakinese lebhaft erinnernde Gestalt an (vgl. a. a. O. 1914, Fig. 15). Unter dem Einfluß von hoher Temperatur werden die Spiremfäden abnorm kurz und dick, viel kürzer wie die normalen Metaphasechromosomen. Alle diese Chromosomenmodifikationen funktionieren doch durchaus normal; ihre Qualität hat offenbar keine Veränderung erlitten. Es handelt sich hier um Hemmungsbildungen (vgl. a. a. O. 1914, S. 168), und es wäre nicht unwahrscheinlich, daß die auffallende Kürze und Dicke der heterotypischen Chromosomen mit Hemmungen zusammenhänge. Denn diese Teilung verläuft, wie man weiß, recht langsam.

Kommen wir so zu dem heterotypischen Spirem. Morphologisch unterscheidet sich dieses Spirem von dem typischen durch den Mangel an einer bestimmten Orientierung der Schlingen (bei Pflanzen; über die Geteiltheit oder Ungeteiltheit wurde oben gesprochen). Meine Untersuchungen[1]) über das Spirem der somatischen Teilung haben ergeben, daß die in der frühen Prophase sich anlegende Längsspaltung ihre Kontinuität erhält. Die gegenteiligen Angaben Bonnevies und andrer wurden auf mangelhafte Fixierung und Färbung sowie darauf zurückgeführt, daß im »dicken« Spirem eine Verengung der Spalte einzutreten scheint. Auch betreffs des heterotypischen Spirems nehmen Winiwarter und Sainmont[2]), Bonnevie[3]) u. a. eine völlige Verschmelzung der früher getrennt bestehenden Spalthälften an.

Die Bilder, die Bonnevie über das Spirem in *Allium* mitteilt, sind ohne Zweifel richtig insofern, daß wirklich Präparate mit homogenen Spiremfäden bei jeder Fixierung nicht selten sind. Eine andre Sache ist es aber, ob man diese Bilder als Beweise für das Stattfinden einer Konjugation der parallelen Fäden in der Prosynapsis betrachten soll. Da man weiß, daß ein Spiremfaden sehr wohl homogen aussehen kann, während er sich doch bei andersartiger Präparation als doppelt herausstellt (denn es sind auch gespaltene Spireme in jedem Stadium beobachtet worden[4]), kann hier in der Tat von Beweisen in dieser oder jener Richtung keine Rede sein. Es bestehen höchstens Wahrscheinlichkeiten.

---

[1]) Lundegårdh, a. a. O. 1912a, S. 249, 253; 1912b, S. 381, 405.

[2]) H. v. Winiwarter et G. Sainmont, Nouvelles recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des Mammifères (chat). Arch. de Biologie. T. XXIV. 1909.

[3]) Kristine Bonnevie, Chromosomenstudien III. Chromatinreifung in *Allium cepa* (♂). Arch. f. Zellforsch. Bd. VI. 1911.

[4]) Vgl. hierüber auch Grégoire, a. a. O. 1910, S. 357 ff.

Es wäre nun nicht recht einzusehen, warum eine Verschmelzung der gepaarten Chromosomen eintreten würde, da sie doch nachher wieder getrennt werden müssen. Die wesentliche Stütze der Theorie von »Mixochromosomen« Bonnevies bleibt dann nur ein hypothetisches Räsonnement über an »sich spaltenden Chromosomenpartikeln« gebundene Erbeinheiten. Derartige hypothetische Vorstellungen sind jedoch kein hinreichender Grund, komplizierte stoffliche Erscheinungen in einen zweifelhaften morphologischen Vorgang hineinzudichten. Daß die Chromosomen etwas mit den mendelnden »Eigenschaften« zu tun haben, mag als Möglichkeit bestehen. Wenn man sich dieser Möglichkeit anschließt, sehe ich aber nicht ein, warum man nicht annehmen könnte, daß die von der Theorie verlangte Vermischung der an das Karyotin gebundenen Teile der »Anlagen« schon beim Beginn der Prophase der heterotypischen Teilung, bzw. noch früher einträte. Denn im »Ruhezustand« findet wohl ein viel lebhafterer Verkehr zwischen den (chemischen) Karyotinbestandteilen statt wie in den Teilungsstadien, wo die Konsistenz des Karyotins sehr zähe ist.

Nach der letztgenannten Auffassung würde also schon beim Eintritt der heterotypischen Teilung die (Pseudo-)Reduktion und die damit verknüpften Verteilungsverhältnisse der »Anlagen« im Prinzip klar sein, und die beiden Teilungsvorgänge stellten nur die Vollbringung des hier implizite Gegebenen vor. Wie es kommt, daß die Chromosomenzahl bei einer derartigen Umordnung des Stoffinhaltes sich konstant ($^1/_1$ oder $^1/_2$) erhält, das ist allerdings ein Rätsel, das im gleichen Grade von der Spiremkonjugationstheorie ungelöst gelassen wird. Übrigens will ich hier keine entschiedene Stellungnahme zu den verschiedenen theoretischen Möglichkeiten machen, denn die Frage von dem Parallelismus zwischen experimentellen Befunden der Bastardforschung und cytologischen Tatsachen ist in den Einzelheiten noch nicht spruchreif. Da sich meine theoretischen Betrachtungen (a. a. O. 1912) nicht mit derartigen Subtilitäten befaßt haben, liegt kein Grund vor, etwas von ihnen wegzunehmen.

Wenn man sich der letzterwähnten Auffassung anschließt, daß also die Chromosomen eine Bedeutung für das Verteilen der »Anlagen« hätten, so leuchtet ein, daß die Doppelchromosomen in der Diakinese keine wahren »Gemini« im Sinne Grégoires sind. Denn die »gemini« sind (stofflich) identisch mit den somatischen Chromosomen. Nach Bonnevie geschähe in «les anses pachytènes» eine Umordnung in diesem Stoffinhalt, so daß die Diakinesechromosomen im gewissen Sinne neugeboren wären. Ich kann mich aber nicht aus morphologischen Gründen Bonnevies Auffassung anschließen, dagegen räume ich als Möglichkeit ein, daß die von

den Vererbungstheoretikern verlangte »Umordnung« schon in der Interphase vor der heterotypischen Teilung einträte. Beweise gibt es hier nicht. — Doch möchte ich darauf hinweisen, daß die einzelnen Fäden der «anses pachytènes» einen ganz andern morphologischen Anblick gewähren wie die Prophasechromosomen. Grégoire behauptet, daß beide »la valeur de chromosomes prophasiques« besitzen (a. a. O. 1910, S. 350), obwohl er keine entsprechende Variation im Aussehen der »somatischen« Chromosomen zugibt!

Um jetzt wieder auf eine frühere Betrachtungsweise (a. a. O. 1912) zurückzugreifen, sei zusammenfassend bemerkt, daß zwischen den Hälften einer «anse pachytène» und den beiden parallelen Karyotinzügen einer typischen Chromosomenanlage ein wesentlicher stofflicher Unterschied bestehe. Ich gestehe, daß diese Annahme hypothetisch ist, aber nach dem hier und andernorts von bedeutenden cytologischen Forschern und von mir Gesagten erscheint mir die Hypothese recht wohlbegründet zu sein. Und diese Hypothese steht in keiner notwendigen Verknüpfung mit den sogenannten »Korpuskeltheorien« der Vererbung.

Außerdem fehlt es auch nicht gänzlich an morphologischen Stützen der Hypothese. Es wurde schon erwähnt, daß die gepaarten Fäden in der heterotypischen Prophase im Anfang bedeutend freier liegen wie in der typischen Prophase, wo niemals eine Divergenz derselben beobachtet wurde. Neuere Untersuchungen haben doch hier ergeben, daß die morphologische Ähnlichkeit der beiden Prophasen größer ist, wie mehrere Forscher, u. a. Grégoire (a. a. O. 1910, S. 351) zugeben wollen[1]).

Die erwähnte Hypothese ist wie ein wichtiger Grundsatz der Theorie über das Karyotin zu betrachten.

Um diesen Grundsatz in Einklang mit meiner Theorie über die ausgesprochene »dualistische« Verteilung des Karyotins zu bringen, bedarf es nur weniger Worte. Denn die Frage von der dualistischen Verteilung des Karyotins (in der von mir 1912 gegebenen Fassung des Begriffs) gehört in eine ganz andere Kategorie von Erscheinungen wie die eben besprochenen Hypothesen. Es handelt sich hier um die Kernteilungsmechanik, um die allgemeinen chemischen und physikalischen (physiologischen) Eigenschaften des Karyotins, welche u. a. seine Teilung in gleiche Hälften ermöglichen. Eines ist aber hier von Wichtigkeit:

---

[1]) Als Beispiel auf die manchmal sehr große Selbständigkeit der Spalthälften der jungen Spirembänder sei die Fig. 19, Taf. II, in meiner Abhandlung »Über die Morphologie des Kerns und der Teilungsvorgänge bei höheren Organismen« (Archiv f. Botanik. Stockholm, Bd. XII, Nr. 8) genannt. Hier kann man wirklich von »parallelen Fäden« auch in der somatischen Prophase sprechen.

Die morphologischen Tatsachen (a. a. O. 1912) haben gelehrt, daß eine bedeutende Variation in der Detailanordnung des Karyotins, sei es in der Ruhe oder bei Chromosomenbildung und -auflösung, besteht. Auch Grégoire muß, sofern er konsequent sein will, eine derartige Variation annehmen, denn nach ihm können dieselben Chromosomensubstanzen in derselben Phase wie »bandes alvéolaires« (in der somatischen Teilung) oder »filaments distincts« (in der heterotypischen Teilung) auftreten. Diese allgemeine Variation dürfte sich nun auch über die dualistischen Erscheinungen erstrecken.

Das vergleichende Studium der prophasischen Vorgänge in somatischen Geweben ergibt nämlich, daß für das Entstehen der doppelten Chromosomenschlingen — da doch die Doppeltheit von Anfang an sichtbar ist — ebensowohl eine Spaltung wie eine Paarung der zusammengehenden oder neuentstehenden Karyotinteilchen (-partikeln, -tröpfchen) verantwortlich gemacht werden kann. Das Resultat würde in beiden Fällen dasselbe sein. Meiner Meinung nach empfiehlt es sich, eine derartige allgemeine Verbreitung von Paarungsvorgängen im Karyotin anzunehmen. Denn eben dadurch ließen sich die typischen und heterotypischen Teilungen unter denselben kernteilungsmechanischen Gesichtspunkt bringen. Wenn man sich dieser Hypothese anschließt, kann man den heterotypischen Dualismus der Chromosomen ruhig aus einer Paarung der homologen (nicht ganz identischen) Karyotinsubstanzen hervorgehen lassen. Man findet dann auch denselben physiologischen Vorgang in der typischen Teilung wieder, obwohl hier identische Karyotinsubstanzen sich nebeneinander ausdifferenzieren; weil es identische Substanzen sind, die hier die Hälften eines Chromosoms konstituieren, kann auch Spaltung vorkommen, die dagegen bei der dualistischen Verteilung nur homologer Substanzen unwahrscheinlich wäre. — Kurz gesagt: Die Theorie der dualistischen Verteilung der Karyotinsubstanzen läßt sich unschwer auf die heterotypische Mitose anwenden; doch wird hierdurch keine vollständige Erklärung derselben erzielt. Um die heterotypische Mitose zu begreifen, muß man sich andrer Betrachtungsarten bedienen.

Zusammenfassung.

1. Die Chromosomenreduktion wird im Prinzip schon vor der Synapsis vollzogen. »Les anses leptotènes» sind nämlich frei und kommen in der reduzierten Zahl vor.

2. Die Doppeltheit dieser Schlingen wird als ein Paarungsvorgang gedeutet, doch geschieht diese Paarung (bei Pflanzen) wahrscheinlich sehr

früh, manchmal sogar in der Interphase, so daß die Paarigkeit schon im Augenblick der Ausdifferenzierung der Fäden besteht. Hieraus die z. T. auffallende morphologische Ähnlichkeit zwischen typischer und heterotypischer Prophase.

3. Daß in der heterotypischen Prophase (eventuell vorhergehenden Interphase) eine Paarung verschiedener Chromosomensubstanzen stattfindet, ist ein hypothetischer Schluß, zu dessen Gunsten jedoch eine nicht unerhebliche Zahl von Tatsachen spricht.

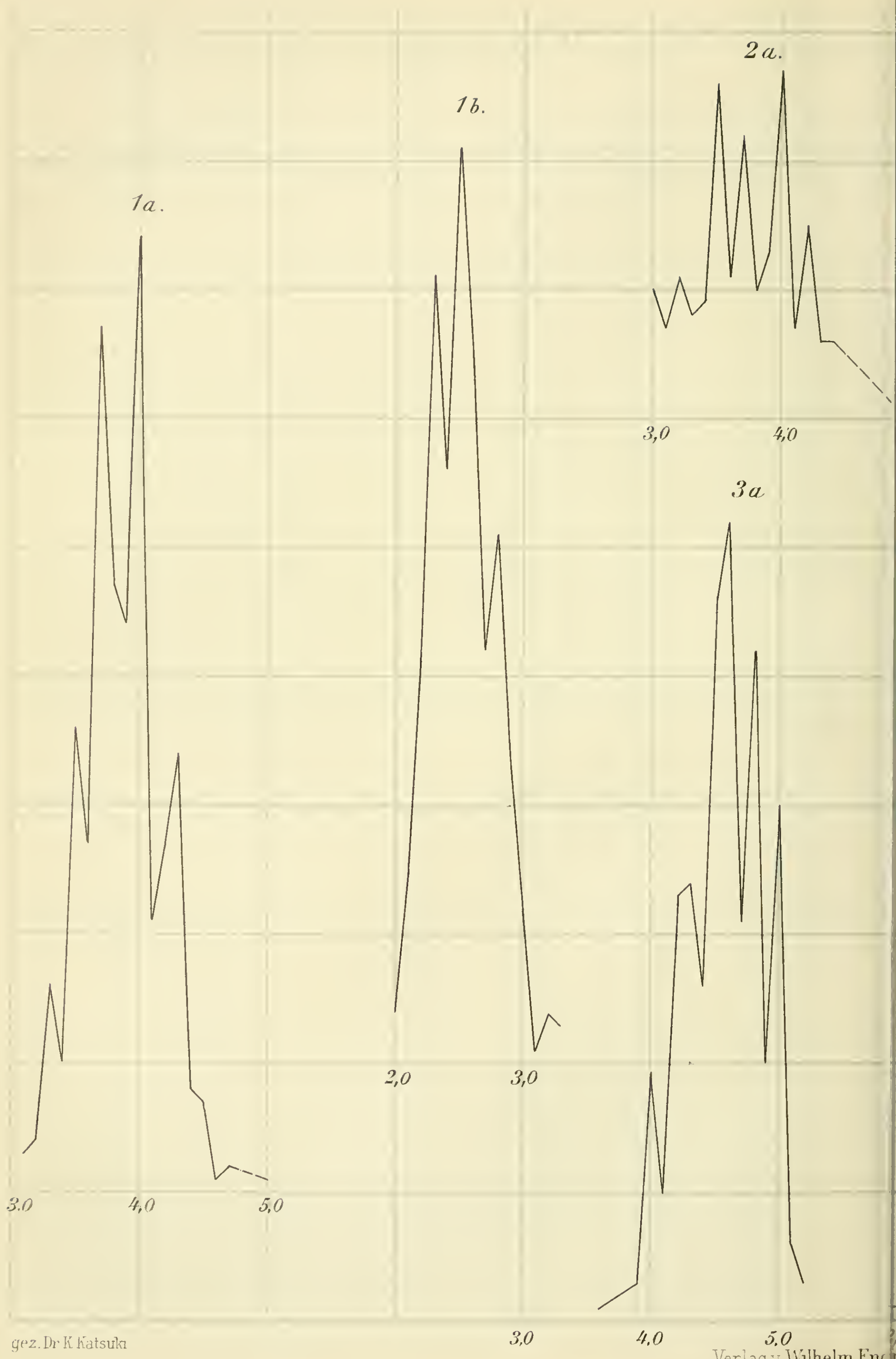
4. Dagegen liegt weder morphologisch noch theoretisch ein zwingender Grund vor, eine Chromosomenkonjugation im Spiremstadium anzunehmen.

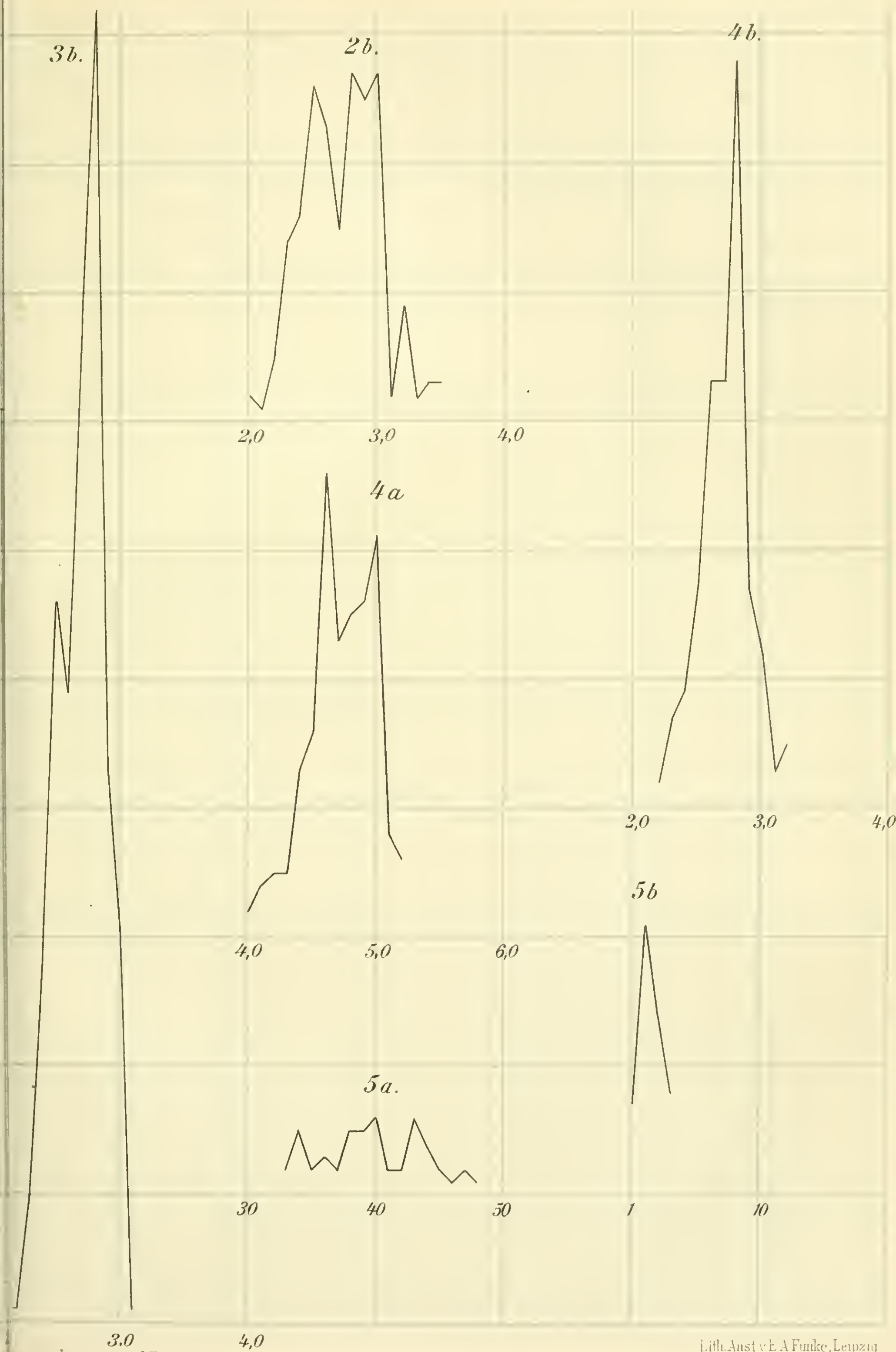
5. Die »end-to-end«-Theorie Farmers und Moores u. a. wird durch die unter 1. erwähnten Tatsachen direkt widerlegt. Die Diskontinuität oder (partielle) Kontinuität des Spirems ist aus ähnlichen Gründen eine Frage von untergeordneter Bedeutung. Die Doppelschlingen in dem Strepsinemastadium sind wahrscheinlich stofflich mit den präsynaptischen Doppelschlingen identisch.

6. Als sekundäre Merkmale der heterotypischen Teilung sind Synapsis und die Chromosomenform in Diakinese und Metaphase anzusehen. Doch wurden diese Merkmale unter Umständen auch in abnormen somatischen Mitosen beobachtet.

7. Die Synapsis wird auf besondere physiologische Bedingungen zurückgeführt, welche die für die somatische Mitose charakteristische Kernwandstellung der Chromosomen aufheben.

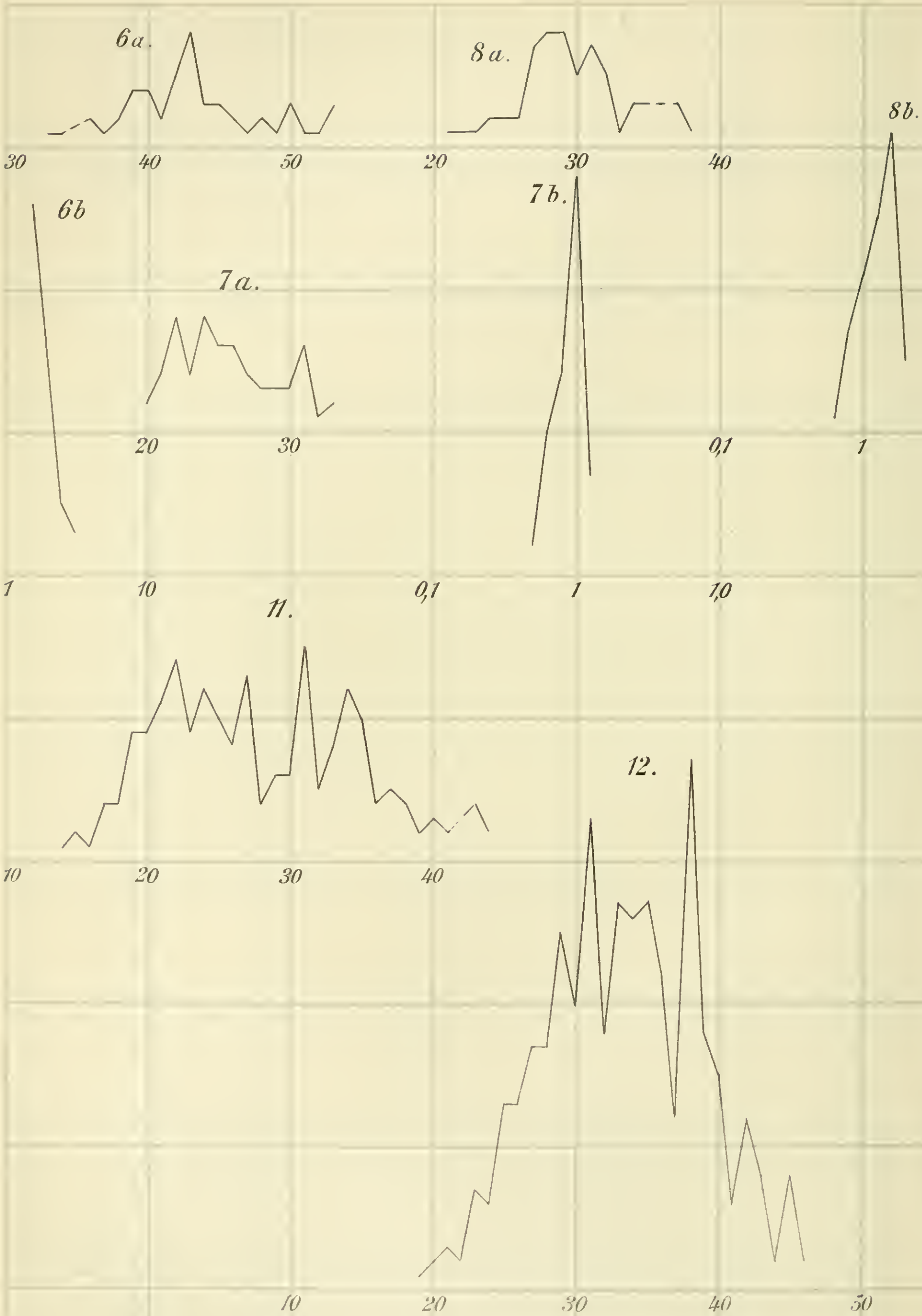
8. Die Theorie über »die dualistische Verteilung des Karyotins« wird durch die Befunde über die heterotypische Teilung nicht beeinträchtigt. Der Sondercharakter dieser Mitose entspringt aus andern Prinzipien wie dieses allgemeine Gesetz.


1a.
3.0
4,0
5,0
1b.
2,0
3,0
2a.
3,0
4,0
3a
3,0
4,0
5,0



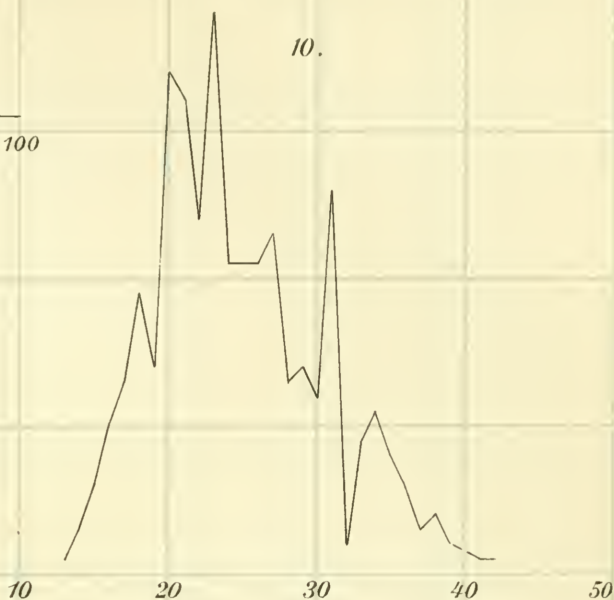
ann in Leipzig und Berlin

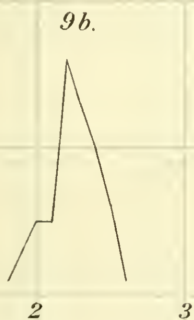
Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig

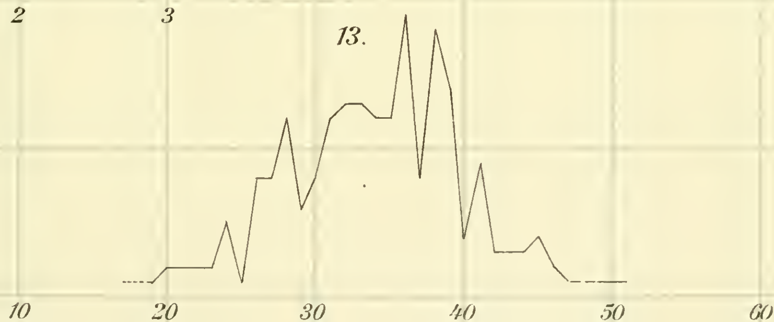

6a.
8a.
8b.
30
40
50
20
30
40
6b
7b.
7a.
20
30
0,1
1
1
10
0,1
1
1,0
11.
12.
10
20
30
40
10
20
30
40
50

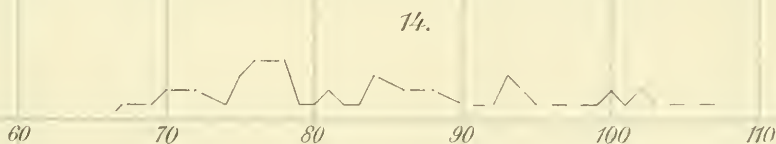
Wilhelm En

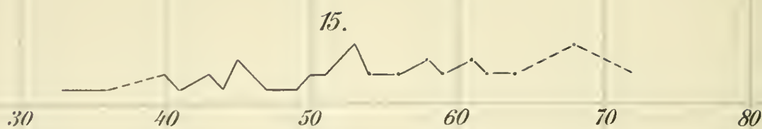

9a.
80
90
100

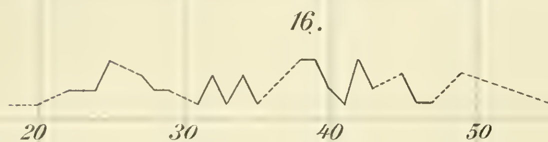

10.
10
20
30
40
50

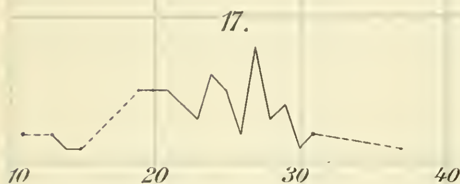

9b.
2
3


13.
10
20
30
40
50
60

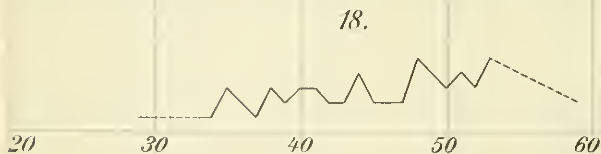

14.
60
70
80
90
100
110

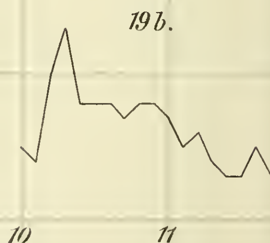












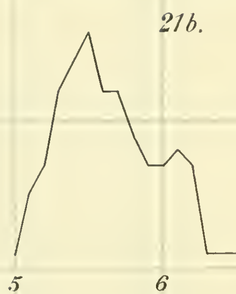




gez. Dr. K. Katsuki

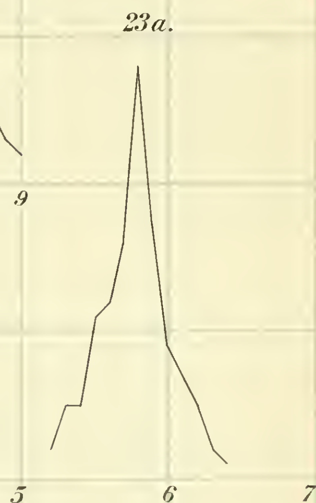
Verlag v. Wilhelm Eng



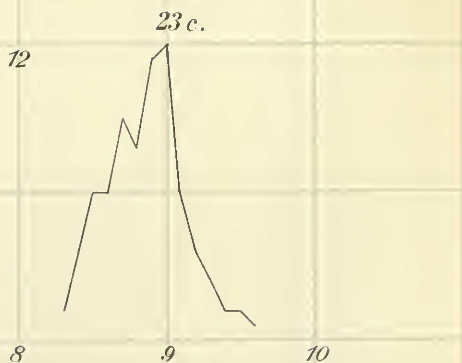


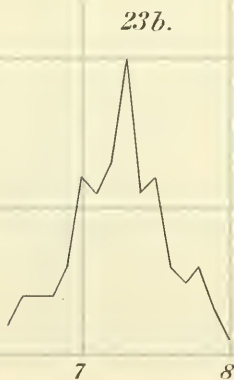






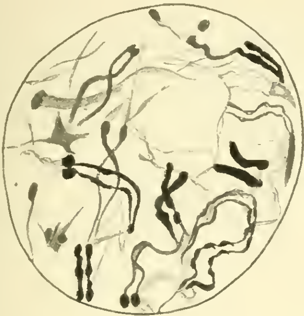






Lith. Anst v E A Funke, Leipzig

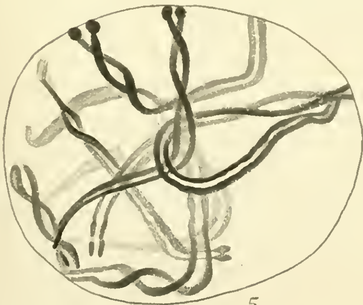
ann in Leipzig

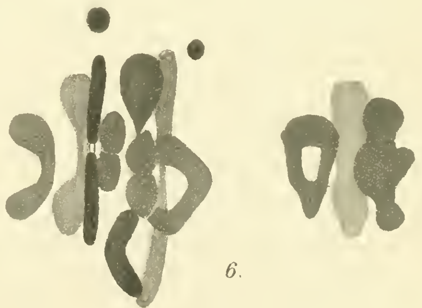

1.


2.


3.


4.


5.


6.

H. Lundegårdh gez. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Inhalt des 1. Heftes.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

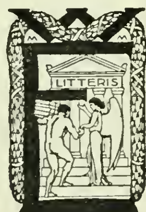
VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



DREIZEHNTER BAND
ZWEITES HEFT
MIT 14 TEXTFIGUREN UND 5 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 4. AUGUST 1914



LEIPZIG UND BERLIN
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1914

Preis: M. 14.—.

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt**, Zoologisches Institut, **München**, Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar M 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Lepidopteren.

Nebst einem Beitrag zur Kenntnis der Eireifung, Samenreifung und Befruchtung.

Von

J. Seiler.

(Aus dem Zoologischen Institut in München.)

Mit 14 Textfiguren und Tafel V—VII.

Inhalt.

A. Einleitung.

Die Frage, auf welche die vorliegende Arbeit eine Antwort geben möchte, ist aufgeworfen worden von der modernen Erblichkeitsforschung, in erster Linie durch die klassischen Bastardierungsexperimente mit Schmetterlingen von Doncaster-Raynor und Goldschmidt.

Doncaster-Raynor kreuzten die normale Form des Stachelbeerspanners, *Abraxas grossulariata*, mit seiner Varietät, *A. lacticolor*, die selten auftritt, und im Freien meist nur im weiblichen Geschlecht, und die sich dadurch auszeichnet, daß ihr das Schwarz der Flügelzeichnung der normalen Form fast ganz fehlt. Die F_2-Generation aus dieser Kreuzung wies in beiden Geschlechtern lauter *grossulariata*-Formen auf; der *lacticolor*-Faktor kommt somit nicht zum Durchbruch, er ist rezessiv, der *grossulariata*-Faktor dominant.

Durch Rückkreuzung des Bastardes, einerseits mit der normalen Form, anderseits mit *lacticolor*-Weibchen, erhielt man nun folgende, äußerst interessante Ergebnisse:

1. F_1 ♂ × *gross.* ♀ = 2 *gross.* ♂ und 1 ♀ + 1 *lac.* ♀, 3 : 1.
2. F_1 ♂ × *lac.* ♀ = 1 *gross.* ♂ und 1 ♀ + 1 *lac.* ♂ und 1 ♀, 1 : 1.

Die neue Form, die aus diesem Experiment hervorging, ist *lacticolor*-Männchen. Benutzen wir die weiter zur Kreuzung mit F_1-Weibchen, so entsteht:

3. F_1 ♀ × *lac.* ♂ = 1 *gross.* ♂ + 1 *lac.* ♀, 1 : 1.

Benutzt man statt der F_1-Weibchen *gross.*-Weibchen aus der freien Natur, so ergibt sich dasselbe Resultat:

4. *gross.* ♀ × *lac.* ♂ = 1 *gross.* ♂ + 1 *lac.* ♀.

Da nun die F_1-Weibchen in bezug auf den *gross.*-Faktor sicher heterozygotisch sind, so folgt aus der vierten Kreuzung, daß dasselbe auch für die wilden *gross.*-Weibchen gelten muß.

Aus den Kreuzungen 1—4 geht nun unzweideutig hervor, daß die Merkmale für die *lacticolor*- und *grossulariata*-Form einerseits, anderseits die Merkmale für Männchen und Weibchen nicht unabhängig voneinander vererbt werden, daß eine gesetzmäßige Korrelation bestehen muß. Bateson und Punnett zeigten nun, welcher Art dieser gesetzmäßige Zusammenhang ist. Sie benutzten zur Erklärung des ganzen Tatsachenkomplexes der geschlechtsbegrenzten Vererbung folgende drei Annahmen:

1. das weibliche Geschlecht ist heterogamet, das männliche homogamet.
2. Weiblichkeit (F) und Männlichkeit (f) sind mendelnde Merkmale, wobei F dominiert über f.
3. Die in Frage kommenden Dominanten (F und der *gross.*-Faktor G) stoßen sich ab.

Nur an einem Beispiel will ich zeigen, daß mit diesen Annahmen die Experimente tatsächlich erklärt werden können. Betrachten wir etwa die Kreuzung 4. Nach der Presence-absence-Theorie lautet die Formel für

gross. ♀ = G g F f
lac. ♂ = g g f f.

Die möglichen Gameten und die daraus sich ergebenden Bastardierungsprodukte sind

G f × g f = G g f f = *gross.*-Männchen.
g F × g f = g g F f = *lac.*-Weibchen.

Ebenso glatt lassen sich alle übrigen Kreuzungen erklären.

Nun aber erheben sich die Fragen: können die getroffenen Annahmen auf irgendeinem Wege bewiesen werden? Ist das weibliche Geschlecht heterogamet? Ist das Geschlecht ein mendelndes Merkmalspaar?

Es ist in den letzten Jahren bekanntlich geglückt, auf cytologischem Wege dem Problem der Geschlechtsvererbung, das noch vor kurzer Zeit unentwirrbar schien, beizukommen. Es zeigte sich nämlich, daß das Männchen vieler Tierformen eine ungerade Chromosomenzahl besitzt, und zwar ein Chromosom weniger als das Weibchen. Folge davon ist, daß bei der paarweisen Vereinigung der Chromosomen in der Synapsis ein Chromosom, das wir X-Chromosom nennen wollen, keinen Partner findet, univalent bleibt und in der Reduktionsteilung, wo die Paarlinge sich trennen, ungeteilt an einen Pol wandert. Somit entstehen also zweierlei Spermatozoen, zweierlei Gameten, solche mit dem X-Chromosom, und solche ohne dasselbe.

McClungs bleibendes Verdienst ist es, diese Tatsache mit der Geschlechtsvererbung in Zusammenhang gebracht zu haben. Seine Hypothese, von Wilson namentlich ausgebaut und verbessert, besagt kurz folgendes:

Die Spermatozoen ohne X-Chromosom sind Männchen bestimmend,
» » mit X- » » Weibchen » .

Es gibt also einen Weg, eine von den oben aufgestellten Fragen zu prüfen. Aber schon wird mir jeder Leser mit dem Schluß zuvorkommen, daß ja gerade die Verhältnisse bei den Lepidopteren der McClungschen Hypothese widersprechen. Die experimentelle Forschung verlangt Digametie im weiblichen Geschlecht; wo aber zytologisch Digametie nachgewiesen werden konnte, war es im männlichen Geschlecht. Nun wird man aber zugeben müssen, daß a priori absolut kein Grund einzusehen ist, warum das unpaare Geschlechtschromosom nicht auch im weiblichen Geschlecht auftreten könnte. Das McClungsche Prinzip würde dadurch keineswegs berührt; einzig müßte der Hypothese eine weitere Fassung gegeben werden. Sie müßte etwa den Zusatz erhalten: ist im weiblichen Geschlecht das unpaare Chromosom, so sind

Eier mit X-Chromosom Männchen bestimmend,
» ohne » Weibchen »

Würde sich also ergeben, daß bei Lepidopteren das weibliche Geschlecht digamet ist, also zweierlei Eier gebildet werden, so wäre zum mindesten ein Wahrscheinlichkeitsbeweis dafür erbracht, daß die Annahme der Heterozygotie des weiblichen Geschlechtes zu Recht besteht. Zudem würde ein positives Ergebnis selbstverständlich Licht werfen auf die übrigen Fälle von geschlechtsbegrenzter Vererbung und namentlich eben von neuem zeigen, daß die Ergebnisse der zytologischen Forschung und

die der mendelschen Erblichkeitsforschung in verblüffender Harmonie stehen, was bekanntlich von einer großen Zahl von namhaften Forschern immer noch nicht anerkannt wird.

Wenn wir uns nun vergegenwärtigen, daß die Geschlechtschromosomenlehre eine Hypothese ist, ferner die Vorstellungen über geschlechtsbegrenzte Vererbung hypothetischer Natur sind, so kann die Frage für mich natürlich nur lauten: Ist bei Lepidopteren zytologisch eine Digametie nachweisbar? Die Arbeit wird somit gleichsam eine Stichprobe werden für die Zulässigkeit der Geschlechtschromosomenhypothese und der Vorstellungen, die sich die experimentelle Richtung von der geschlechtsbegrenzten Vererbung gemacht hat.

Zur Beantwortung der Frage war natürlich vor allen Dingen eine genaue Kenntnis der Samen- und Eireifung notwendig. Da die Eireifung der Schmetterlinge nur mangelhaft studiert und so viel wie unbekannt ist, zudem nach einem Typus verläuft, der vollständig neu sein dürfte und im ganzen Tierreich vorläufig kein Analogon hat, so werde ich darauf etwas ausführlicher eingehen, als mein Thema es verlangt. Daß ich auch das monogamete Geschlecht berücksichtigen werde, bedarf wohl keiner Rechtfertigung, denn keinem Leser der Geschlechtschromosomenliteratur wird entgangen sein, daß eigentümlicherweise »unsre Kenntnisse über die Schicksale der Geschlechtschromosomen in andern, als den männlichen Keimzellen, noch recht unvollkommen sind« (Schleip 12), trotzdem es in die Augen springt, daß wir das Sonderverhalten der Geschlechtschromosomen erst dann kennen, wenn wir ihr Schicksal auch im monogameten Geschlecht studiert haben. Daß sie im digameten Geschlecht sich besonders verhalten, verwundert niemand, das kann aus ihrer Univalenz folgen und braucht für ihr Wesen absolut nicht charakteristisch zu sein.

Die vorliegende Arbeit wurde im zoologischen Institut der Universität München vom Frühjahr 1912 bis Frühjahr 1914 ausgearbeitet, nachdem ich an der Universität Zürich ins Studium der Zoologie eingeführt worden war. Meinen hochverehrten Lehrern, Herrn Geheimrat Prof. R. Hertwig, Prof. A. Lang, Prof. Goldschmidt und Prof. Hescheler, bin ich zu großem Dank verpflichtet für das Interesse, das sie meinem Studium und meiner Arbeit entgegenbrachten und für die Unterstützung mit Rat und Tat. Besonders herzlich danke ich Herrn Geheimrat Hertwig für die Überlassung eines Arbeitsplatzes im Institut. Der Großteil meines Materials wurde vom Institut angeschafft; einige Kulturen erhielt ich ferner von Prof. Standfuss, wofür ich an dieser Stelle herzlich danke. Vielen Dank schulde ich Herrn Prof. Goldschmidt,

der die Anregung zur Arbeit gab, ihren Fortgang mit größtem Interesse verfolgte, stets fördernd und anregend, und sich die Mühe nahm, die für die Geschlechtschromosomenfrage entscheidenden Präparate durchzusehen und zu überprüfen. Herrn Privatdozent Dr. Buchner danke ich herzlich für die Überlassung seiner reichen zytologischen Bibliothek und für mannigfache Ratschläge. Endlich schulde ich vielen Dank Herrn Curt B. Haniel, der mir schon seit 2 Jahren sein ausgezeichnetes Zeiss-Mikroskop zur Benutzung überlassen hat.

B. Spezieller Teil.

1. Material und Technik.

Da es sehr wünschenswert wäre, wenn weitere Untersuchungen über die Geschlechtschromosomenfrage bei Schmetterlingen und über die erste Entwicklung im Ei angestellt würden, so könnte es vielleicht nützlich sein, wenn ich meine Erfahrungen über Materialgewinnung und Technik kurz mitteile.

Der Grund, warum die erste Entwicklung des Schmetterlingeies seit Platners (88) und Henkings (90) Zeiten nie mehr untersucht wurde, liegt in den mannigfachen Schwierigkeiten, die das Material dem Untersucher stellt. Schon die erste Bedingung für eine einwandfreie Untersuchung, gute Fixierung der Objekte, ist schwer erfüllbar. Und ebenfalls schwer ist meist das unerläßliche Schälen der Eier, ohne welches sie nicht geschnitten werden können. Nach diesen beiden Punkten wird man sich richten, wenn man es nicht auf die Untersuchung einer ganz bestimmten Form abgesehen hat. Man wird also Schmetterlinge wählen mit kleinen, dünnschaligen Eiern; die sind relativ leicht zu fixieren und zu schälen und das Absuchen der Schnittserien nach dem Kern ist natürlich weniger zeitraubend, als bei großen Eiern. Von großem Vorteil ist es, wenn die Eier nicht rund sind, so daß sie beim Einbetten orientiert werden können und man nach Wunsch Polansichten oder Seitenansichten der Spindeln sich verschaffen kann.

Fixierung. Brauchbare Erfahrungen über Fixierung junger Schmetterlingeier liegen nicht vor. Henking (90) fixierte mit heißem Wasser und Platner (88) starb, bevor er seine definitive Arbeit geschrieben hatte, und in der vorläufigen Mitteilung erwähnt er nichts über Technik. Schwangart (04) empfiehlt für spätere Entwicklungsstadien von der Keimstreifenbildung an Perenyische Flüssigkeit, bringt die Eier dann 4—5 Stunden in Formol, um das Schälen zu erleichtern. Von Physiologen

(vgl. BRAMMERTZ 13) ist in letzter Zeit das Schmetterlingei mehrmals untersucht worden. Ihre Fixierungsweise (CARNOY) ist für cytologische Untersuchungen nicht empfehlenswert.

Was meine Erfahrungen anbetrifft, so habe ich einzig mit dem Gemisch von PETRUNKEWITSCH (01) gute Erfolge erzielt. Die meisten übrigen Fixierungsflüssigkeiten dringen entweder gar nicht, oder zu langsam, oder erst bei hoher Temperatur, bei welcher schon längst eine reine Hitzefixierung stattgefunden hat, durch die äußerst resistente Chitinschale. Die schönste Fixierung erhält man, wenn man das Gemisch etwas erwärmt, dann dringt es rasch durch die dünnen Schalen und ruft weder Schrumpfung noch Schwellung hervor. Dickschalige Eier sind äußerst schwer gut zu fixieren; zudem verhalten sie sich von Art zu Art so sehr verschieden, daß ich nichts weiter anzugeben brauche, als das, daß man die Eier in der Fixierungsflüssigkeit vorsichtig erwärmt bis zu dem Moment, wo man von der Mikropyle her die Flüssigkeit eindringen sieht. Bei den äußerst widerspenstigen Eiern von *monacha* z. B. dringt PETRUNKEWITSCH etwas vor 50° C ein und damit wird der Eiinhalt milchweiß. In diesem Moment muß man das Erwärmen unterbrechen, denn setzt man es nur wenig fort, so findet eine Schwellung des Eiinhaltes statt, die Dottermembran wird an die Schale gedrückt, verklebt daran, und ein Schälen ist nachher unmöglich, weil man mit der Schale das Keimhautblastem wegreißt.

Ich fixierte durchweg 24 Stunden. Ein langes Auswaschen mit Jodalkohol ist erforderlich, da die Diffusion der Flüssigkeiten durch die Schale sehr langsam sich vollzieht.

Schälen. Über das Schälen, das unumgänglich ist, brauche ich nicht viel zu sagen. Übung ist alles. Langes Liegen der Eier in 70%igem oder 80%igem Alkohol erleichtert es wesentlich, da die Dottermassen besser zusammenhalten. Das Schneiden wird dadurch keineswegs erschwert. Frisch fixierte Eier sind immer schwer zu schälen; die Dottermassen sind derart bröckelig, daß sie beim leisesten Druck zerfallen. Wenn man weiß, wo der Kern liegt, so dreht man den entgegengesetzten Pol gegen den Boden des Gefäßes, sticht mit möglichst tangential gehaltener, scharfer Nadel an, drückt sie, wenn sie eingedrungen ist, gegen unten, hält also das Ei an der Schale fest und dreht mit einer zweiten Nadel am Ei etwas und bricht Stück um Stück aus der Schale los.

Die chitinige Schale vor dem Schälen aufzuweichen durch Einlegen der Eier in Eau de Javelle, Seifenspiritus oder Formol kann ich nicht empfehlen. Entweder schaden die angegebenen Mittel den Eistrukturen (Eau de Javelle), oder bewirken Schrumpfungen (Seifenspiritus), oder

taugen überhaupt nichts (Formol). Findet man ein Aufweichen doch wünschenswert, so ist es am zweckmäßigsten, die Eier kurze Zeit in salzsauren Alkohol zu legen, der macht die brüchige Chitinschale elastisch, was gelegentlich von Vorteil ist. Die schrumpfende Wirkung des Seifenspiritus dagegen kann man sich zu Nutzen machen. Bringt man die Eier aus 70%igem Alkohol in verdünnten Seifenspiritus, so beginnt der Inhalt langsam einzuschrumpfen, weil die Schale den Seifenspiritus nicht durchdiffundieren läßt, und dieser als Lösung mit höherem osmotischen Druck dem Ei Alkohol entzieht. Wenn eben der Eiinhalt sich von der durchscheinenden Schale wenig zurückgezogen hat, bringt man die Eier in 70%igen Alkohol zurück und muß sie rasch schälen, weil sonst die kleine Schrumpfung durch das Nachfließen von Alkohol wieder aufgehoben wird. Findet man das lästig, so verdünnt man den Seifenspiritus stark und läßt ihn länger einwirken; dann wird die kleine Schrumpfung nachher nicht mehr rückgängig gemacht, was der Untersuchung absolut nichts schadet. Ich betone jedoch, daß man dieses Hilfsmittel gar nicht braucht, wenn man das Schälen einmal los hat; ich habe es nur selten verwendet. Leider versagt es vollständig, wenn bei der Fixierung eine Schwellung hervorgerufen wurde und die Dotterhaut an der Schale angeklebt ist.

Das Einbetten und Schneiden bereitet keine Schwierigkeiten. Am besten färbt man die geschälten Eier mit Boraxkarmin vor, weil nachher das Orientieren leichter ist, führt sie langsam durch die Alkohole und sehr sorgfältig ins Intermedium, da die Schrumpfungsgefahr sehr groß ist. Als Intermedium eignet sich am besten Zedernholzöl. Die Schnittdicke variierte ich zwischen 4—8 μ.

Färben. Gefärbt wurde vorwiegend mit Heidenhains Eisenhämatoxylin und Kontrollfärbungen wurden mit Kernfarbstoffen vorgenommen. Als Plasmafarbstoff verwendete ich S.-Fuchsin.

Um Hodenmaterial und Ovarien zu erhalten, züchtete ich die Formen, die ich untersuchen wollte, selbst und fixierte für Reifeteilungen im Hoden namentlich von der zweitletzten Häutung an, für die Vermehrungs- und Wachstumsstadien im Ovar und Hoden am zweckmäßigsten von jungen Tieren. Osmiumsäuregemische liefern die besten Resultate; gelegentlich ist auch Carnoy brauchbar.

Färbung wie bei den Eiern, zudem mit Ehrlich-Biondis Triacid.

II. Reifeteilungen im Ei und Befruchtung.

1. Der Verlauf der Reifeteilungen im Ei.

Als Untersuchungsobjekte wählte ich Formen, die durch die experimentelle Vererbungsforschung analysiert worden waren. In erster Linie wollte ich *Abraxas grossulariata* untersuchen, aber leider gingen mir die angelegten Zuchten zugrunde. Das andre Objekt, auf das ich es abgesehen hatte, war die Gattung *Lymantria*. Ich untersuchte alle drei, durch die ausgedehnten Experimente Goldschmidts jedermann bekannten Arten *L. dispar* L., *L. japonica* Motsch, *L. monacha* L. Nebenher führte ich eine größere Anzahl Zuchten von Raupen der verschiedensten Arten und hoffte, darunter eine günstige Form zu eingehender Untersuchung herauszufinden. Die fand sich denn auch in *Phragmotobia fuliginosa* L. Für die Reifeteilungen zog ich dann noch vergleichshalber *Orgyia antiqua* L. und *O. gonostigma* F. heran.

Da zur Beurteilung der Geschlechtschromosomenfrage eine genaue Kenntnis der Reifeteilungen im Ei notwendig ist, will ich erst diese schildern. Ihr Verlauf ist bei den sechs erwähnten Arten derart übereinstimmend, mit Ausnahme der nachher zu besprechenden, für jede Art natürlich charakteristischen Chromosomengrößen und Chromosomenzahlen, daß ich ihn gemeinsam für alle untersuchten Formen beschreiben kann. Ich hoffe, damit ein allgemein gültiges Schema für den hochinteressanten Verlauf der Lepidoptereneireifung zu geben.

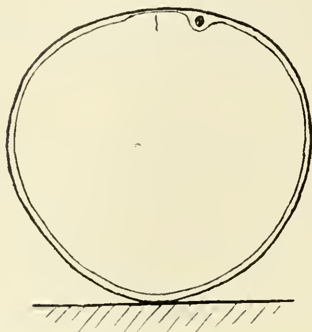
a) Bau des Schmetterlingeies.

Orientieren wir uns zunächst über den Bau des Schmetterlingeies, über seine Hüllen, über seine Form und über die Lage des Eikernes. Das Ei ist umschlossen von einer mächtigen, äußerst resistenten, chitinigen, für Luft leicht, für die meisten Flüssigkeiten dagegen sehr schwer oder gar nicht durchlässigen Schale, die auf meinen Abbildungen nirgends zu finden ist, weil sie ja vor dem Schneiden entfernt werden mußte. Unter der Schale folgt ein sehr zartes, helles Häutchen, das ich Dottermembran nennen will, Henkings Oolemm, das von den ersten Untersuchern (Bobretzkj 78) infolge seiner Zartheit übersehen worden ist. Es zeigt oft radiäre Struktur (vielleicht durch die Fixierung hervorgerufen!), erinnert so etwas an die Zona pellucida und ist bei den untersuchten Arten verschieden mächtig; bei *gonostigma* (Fig. 28), auch bei *antiqua* sehr stark, vielleicht doppelt so mächtig wie bei *Lymantria* und *fuliginosa*. Die Dottermembran grenzt nach innen an eine Schicht peripheren,

feinkörnigen Plasmas, welches das ganze Ei umspannt, nur vereinzelte Dotterkugeln in sich einschließt und Keimhautblastem genannt wird. Darauf folgt der Dotter; erst liegen die Kugeln noch weit auseinander (Fig. 15) und schließen zwischen sich weitmaschiges Plasma ein, bald aber kommt nach innen zu Dotterkugel an Dotterkugel zu liegen, nur wenig Raum für das Bildungsplasma bleibt noch frei. Diese Bezirke sind auf meinen Abbildungen nicht mehr eingezeichnet. — Wir haben also das typisch centrolecithale Ei der Insekten vor uns.

Der animale Pol liegt bei allen Formen, die ich untersucht habe, der Stelle, an der das Ei bei der Ablage angeheftet wird, gegenüber. Henking gibt dasselbe an für *Pieris brassicae*. Hier ist die Mikropyle, ein kleines Loch in der Schale, das man unter der Lupe bei manchen Formen auffinden kann und so von vornherein die Möglichkeit gegeben ist, über die Lage des Kernes in Gewißheit zu kommen. Der liegt nämlich immer in nächster Nähe der Mikropyle und zwar wenig seitlich von ihr im Keimhautblastem, das sich an dieser Stelle etwas gegen das Eicentrum vorbuchtet und Richtungsplasma genannt wird (Textfig. 1). Unter der Mikropyle ist das Keimhautblastem wenig mächtig.

Textfig. 1.



Schematischer Sagittalschnitt durch das Ei von *Orgyia antiqua*, mit eingedrungenem Spermatozoon; daneben das Richtungsplasma mit der ersten Reifespindel. Äußerste Linie gleich Chorion, darunter das Keimhautblastem.

Aus dieser Schilderung geht hervor, daß das Schmetterlingei bilateral symmetrisch ist. Die Ebene, die durch die Mikropyle, ihren gegenüberliegenden Pol und durch das Richtungsplasma geht, ist die Sagittalebene. Die Textfig. 1 gibt die Sagittalebene des Eies von *antiqua* mit Spermatozoon und Richtungsspindel wieder. Die Form des Eies ist fast kugelrund, der animale Pol ist schwach abgeplattet. Dieselbe Eiform besitzt *gonostigma* und *fuliginosa*, nur daß bei *fuliginosa* der Eikern am spitzen Eipol liegt. Die *Lymantria*-Eier sind ellipsoidisch, der animale Pol ist etwas flacher als der gegenüberliegende (Textfig. 4, S. 191).

b) Prophase zur ersten Reifeteilung.

Im eben abgelegten Ei befindet sich das Keimbläschen auf dem Stadium der Prophase zur ersten Reifeteilung. Die Kernmembran ist meist schon vollständig verschwunden, nur gelegentlich ist sie noch er-

kennbar (Fig. 16); immer aber ist der Kernbezirk durch seinen grobkörnigen Inhalt noch deutlich vom umgrenzenden Plasma abgehoben. Die Chromosomen sind bereits in die Äquatorialebene eingestellt und jetzt schon deutlich gespalten. Sie liegen jedoch, wie Polansichten zeigen (Fig. 17), noch in schleifenförmigen Verbänden vor, die aber deutlich die Chromosomengrenzen erkennen lassen. Im Bezirk der Chromosomenplatte bildet sich die Spindel aus, die ganz vom Kern geliefert wird, genau wie in den Spermatocyten erster Ordnung und in somatischen Mitosen. Gegen die Metaphase zu vermischt sich allmählich der Kerninhalt mit dem angrenzenden Plasma und die Chromosomen individualisieren sich aus den Verbänden heraus.

c) Metaphase der ersten Reifeteilung.

Auf dem Stadium der Metaphase ist die Spindel fertig gebildet; sie steht meist senkrecht zur Oberfläche, gelegentlich aber auch schief (Fig. 28), hie und da sogar parallel (Fig. 1—3, 16, 17). Wie bei fast allen übrigen Insekten ist auch hier ein Centriol oder Centrosom nicht vorhanden; ebenso fehlt eine Polstrahlung.

Die Chromosomen haben sich inzwischen alle aus den schleifenförmigen Verbänden losgelöst, gelegentlich bleiben sie aber noch durch chromatische Brücken lange miteinander in Verbindung (Fig. 2). Der Trennungsspalt der ersten Reifeteilung ist deutlicher geworden. Wichtig für die Entscheidung über die gegenseitige Lage der beiden Teilungsebenen ist nun, daß wir uns die Chromosomenform in Polansichten einprägen. Die Chromosomen sind kurz stäbchenförmig und zeigen eine Querkerbe, die namentlich deutlich an den großen Chromosomen in die Augen springt (Textfig. 5*a*, S. 202, für *fuliginosa*, Fig. 10*a*, *b*, *c*, S. 235 für *dispar* und *japonica*). Die Vermutung wird nahe liegen, daß die Querkerbe die Richtung der zweiten Teilungsebene andeutet. Betrachten wir aber die Chromosomenformen genauer, so gelingt es, allerdings nur bei den *Lymantria*-Arten und auch hier meist nur an den größten Chromosomen, eine weitere Kerbe an der schmalen Kante zu entdecken und von ihr ausgehend die Andeutung eines Längsspaltes durch einen schwachen, weißen Schimmer. Damit sind wir nun vollständig im ungewissen über den Verlauf der zweiten Reifeteilung, denn in Polansichten gesehen sind an den Chromosomen zwei Teilungsmöglichkeiten angedeutet, da die Chromosomen Tetradenform besitzen. Erinnern wir uns nun, daß auf Seitenansichten zu dieser Zeit der Trennungsspalt der ersten Reifeteilung vorhanden ist, so haben wir als Ausgangspunkt für die erste Reifeteilung zwei untereinanderliegende »Tetraden«, also eine sogenannte Ditetrade.

Nun muß allerdings zugegeben werden, daß der Längsspalt der Polansicht so wenig deutlich ist, daß ein Beobachtungsfehler nicht ausgeschlossen ist; er könnte sehr wohl auf einer optischen Täuschung beruhen; dann würde natürlich die Kerbe an der Schmalkante auch nur scheinbar existieren, eben eine Folge sein des scheinbaren Längsspaltes. Wir wollen deshalb die Frage, ob eine Ditetrade tatsächlich vorliegt, vorläufig unentschieden lassen, da es während der Anaphase leichter ist, die Sache unzweideutig zu entscheiden. Nur eines steht vorläufig fest, die Existenz einer Querkerbe.

d) Anaphase der ersten Reifeteilung.

α) Chromatinelimination.

Mit Beginn der Anaphase setzen wichtige Vorgänge ein, die wir nun genau verfolgen wollen. Die Tochterchromosomen, die schon während der Metaphase reinlich voneinander getrennt waren, weichen wenig auseinander (Fig. 18). Aber kaum begonnen, stockt schon das Vorrücken, und zu unsrer Überraschung wird der Raum zwischen den etwas aufgequollenen, aufgedunsenen Tochterchromosomen, ohne daß diese zurückwanderten, kleiner statt größer; schließlich verschwindet er meist fast ganz. Es scheint, als ob die Chromosomen einander entgegenwachsen würden, bis sie schließlich aufeinander stoßen (Fig. 19). Über die Vorgänge, die sich abspielen, erhält man im einzelnen durch direkte Beobachtung keinerlei Aufklärung, und welches das Endresultat aller Umwandlungen sein wird, ist noch nicht vorauszusehen. Die Anaphase rückt vor, die verschmolzenen Tochterchromosomen, die plump, augenscheinlich angeschwollen und in den Konturen etwas unscharf waren, werden schlanker und präziser (Fig. 20). Man beginnt zu ahnen, daß eine Neukonstituierung stattfindet, ist aber nicht wenig erstaunt, auf einem etwas späteren Stadium (Fig. 21) drei Chromosomenplatten sich sondern zu sehen. Immer deutlicher grenzen sich die Tochterchromosomen ab (Fig. 22 u. 24); schließlich sind sie nur noch durch einen dünnen Chromatinfaden mit dem zugehörigen Mittelstück in Verbindung. Endlich reißt auch dieser (Fig. 23), und drei vollständig getrennte Chromatinplatten liegen nun vor, die beiden Tochterplatten und zwischen ihnen die Chromosomenplatte, die ihren Ursprung aus den Tochterplatten genommen hat, und die ihre doppelte Herkunft deutlich an der auf diesen Stadien schon gut wahrnehmbaren Zweiteiligkeit ihrer Chromosomen verrät (Fig. 22, 24 u. 25). Es kann kein Zweifel sein, von jedem Tochterchromosom hat sich ein Teilstück losgelöst. Wie der Prozeß im einzelnen sich abspielt, kann nur vermutet werden. Eine bloße Abschnürung ist

es kaum; der Verlauf des sonderbaren Vorganges spricht vielmehr dafür, daß während dieser Zeit eine fundamentale Neukonstituierung stattfindet, eine allmähliche, durchgreifende Sonderung der beiden gegensätzlichen Chromatinmassen, ähnlich etwa dem Vorgang der Entmischung zweier Flüssigkeiten. Weil diese neue Chromatinplatte durch einen Ausscheidungsprozeß entstanden ist, nenne ich sie Eliminationsplatte und unterscheide sie also von der längst bekannten, bei Pflanzen und Tieren weit verbreiteten, ähnlich aussehenden Zell- oder Mittelplatte. Die Mittelplatte entsteht nach den übereinstimmenden Angaben der

Textfig. 2.



Chromosomenplatten der Anaphase aus zwei Eiern von *Orgyia antiqua*. Es gehören zusammen *a b* a_1 und *c d* c_1. a_1 äußere Tochterplatte, darunter *b* Eliminationsplatte, *a* innere Tochterplatte. — c_1 äußere Tochterplatte, darunter *d* Eliminationsplatte, *c* innere Tochterplatte. — *e* Äquatorialplatte der zweiten Reifeteilung im Ei von *Phrag. fuliginosa*. (Diese, wie alle folgenden Chromosomenbilder gezeichnet mit Zeiss Zeichenapparat nach Abbe, Zeiss Apochr. 2 mm. n. A. 1,4. Occ. 18. Tubus 160 mm. Zeichenblatt 12,5 cm unter dem Objekttisch. Bei der Reproduktion auf $^{10}/_{11}$ verkleinert, macht eine Vergrößerung von 4080.)

Autoren durch Verkürzung und damit Verdickung der Spindelfasern; die Eliminationsplatte dagegen dadurch, daß die Chromosomen einen Teil ihres Chromatins abgeben. Über eventuelle Beziehungen zwischen beiden Erscheinungen, die oft in verblüffend ähnlichem Kleide sich präsentieren, will ich später diskutieren.

Verfolgen wir zunächst das Schicksal der drei Chromosomenplatten ein Stück weiter. Während die Tochterplatten gegen die Spindelpole zurücken, bleibt in der Eliminationsplatte vorerst alles beim alten (Fig. 28); doch fällt auf, daß auf diesem Stadium ihre Zweiteiligkeit fast immer deutlich ausgeprägt ist, während in der frühesten Anaphase sie selten

klar vorhanden ist. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß erst nach der beendigten Elimination eine reinliche Sonderung der Chromatinmassen, ihrer Herkunft gemäß, stattfindet. Vielleicht aber existiert sie schon von Anfang an und ist nur schwer nachweisbar. In Polansichten ist natürlich von der Zweiteiligkeit nichts zu sehen und es gleichen sich die drei übereinanderliegenden Chromosomenplatten oft sehr genau. Vergleicht man z. B. in der Textfig. 2 die Chromosomenplatten von *Orgyia antiqua*, so wird es nicht schwer fallen, an der entsprechenden Lage die homologen Tochterchromosomen und das zugehörige Stück in der Eliminationsplatte zu erkennen; so liegen über den 14 Chromosomen der inneren Platte *a* die 14 ungefähr gleich orientierten Chromosomen der Eliminationsplatte *b* und darüber wieder in ähnlicher Lage die 14 Tochterchromosomen der äußeren Platte a_1. Dasselbe gilt von den zusammengehörigen Platten *c*, *d*, c_1, nur daß hier die Eliminationsplatte *d* sich schon etwas abweichender verhält.

Ungefähr dann, wenn die Chromosomen der Tochterplatten infolge der neuen Raumverhältnisse in der Nähe der Spindelpole aus ihrer Ebene heraustreten und sich in die Fläche einer Kugelhaube einstellen, zeigt die Eliminationsplatte die ersten Anzeichen von Veränderungen. Die zweiteiligen Chromosomenfragmente fließen an den Trennungsflächen in die Breite (Fig. 27), stoßen dabei aneinander, und in Seitenansichten scheint es, als ob ihr gesamtes Chromatin zusammenfließen würde (Fig. 26). Wie Polansichten und schiefgetroffene Spindeln erkennen lassen, geschieht das tatsächlich gelegentlich; meist jedoch geht der Verschmelzungsprozeß nicht so weit, die Chromatinbrocken treten nur durch chromatische Faserbrücken miteinander in Verbindung (Fig. 29).

So wie der ganze Vorgang der Elimination bis jetzt beschrieben wurde, verläuft er bei allen untersuchten Schmetterlingarten in der Großzahl der Fälle. Gelegentlich aber kommen Variationen in der Art der Eliminationsplattenbildung vor, — namentlich häufig sind sie mir bei *fuliginosa* begegnet —, von denen ich rasch einige Proben geben möchte, weil sie sehr instruktiv sind und etwaigen Zweiflern demonstrieren werden, daß Eliminationsplatte und Mittelplatte der Genese nach zwei grundverschiedene Sachen sind.

Die Tochterchromosomen scheinen oft vorzurücken, bevor die Elimination beendet ist. Die Folge davon ist, daß das sich aussondernde Chromatin ausgezogen wird in lange Fäden (Fig. 3), die von den Tochterchromosomen zum Äquator hinziehen. Durch diese Bilder wird die Vorstellung erweckt, als fließe von jedem Chromosom ein feines Bächlein von Chromatin, sich unterwegs gelegentlich mit Nachbarbächlein ver-

einigend, gegen den Äquator hin, und zwar will es scheinen als ob das Abfließen von der schmalen Kante des Chromosoms erfolgen würde.

Die Verschleppung der Elimination betrifft oft nur einzelne wenige Chromosomen. Während die Hauptmasse derselben ihren »Reinigungsprozeß« gleich zu Beginn der Anaphase durchgemacht hat, geben wenige ihr überflüssiges Chromatin erst unterwegs ab, auf der Wanderung gegen die Spindelpole zu. So kommt es denn, daß zwischen der Eliminationsplatte und den Tochterplatten vereinzelte Chromatinbrocken herumliegen (Fig. 6 u. 7). Nicht selten ertappt man solche Nachzügler bei ihrem Eliminationsgeschäft und sieht dann das sich absondernde Chromosomenfragment noch am Mutterchromosom hangen (Fig. 4), oder man kann schon in der frühen Anaphase Chromosomenpaare sehen, die noch keine Anstalten zur Elimination treffen, während bei den übrigen dieselbe schon im Gange ist (Fig. 20). In der späten Anaphase wird nur selten noch eliminiert, und nur in ganz vereinzelten Fällen trennen sich noch in der Interkinese Chromatinbrocken ab (Fig. 12).

Schon längst wird es aufgefallen sein, daß die Quantität des abgesonderten Chromatins sehr verschieden ist. Die Regel dürfte vielleicht sein, daß die Chromosomenplatten $^1/_4$—$^1/_2$ ihres Volumens bei der Elimination verlieren, so daß also die Eliminationsplatte bis zweimal so stark wird wie eine Tochterplatte (vgl. Fig. 22, 23, 25—29), selten ist sie noch stärker (Fig. 24), so daß dann die Tochterchromosomen verglichen mit den Eliminationschromosomen unglaublich mager sind. Häufiger als diese extremen Plusvarianten sind die Fälle, wo die Quantität der Eliminationsplatte nur halb so groß ist, wie die einer Tochterplatte (Fig. 7) oder noch kleiner (Fig. 4, 6).

Betrachten wir ferner die einzelnen Eliminationschromosomen auf ihre Größenverhältnisse hin, so ergibt sich wieder dieselbe Variabilität, wieder dieselbe unverständliche Gesetzlosigkeit. Textfig. 2, S. 171, z. B. zeigt in der oberen Eliminationsplatte ein sehr großes Chromosom, in der unteren zwei auffällig kleine. Zudem macht diese Figur etwas sehr Wichtiges wahrscheinlich, durch die zahlreichen Chromosomenbilder im Geschlechtschromosomenkapitel dieser Arbeit wird es zur Gewißheit: zusammengehörige Tochterchromosomen sind auch nach der Elimination noch gleich groß. Daraus folgt, da zweifelsohne als sicher angenommen werden darf, daß die erste Reifeteilung die Chromosomen äqual teilt, daß Tochterchromosomen gleich viel Eliminationschromatin abgeben.

Die auffälligsten Minusvarianten haben wir in den seltenen Fällen, wo trotz vorgerückter Anaphase noch keine Elimination stattgefunden hat (Fig. 31), oder wo augenscheinlich nur einige wenige Chromosomen

eliminiert haben (Fig. 30, 32, 40). Sofort rufen diese Fälle die Frage wach: wird hier überhaupt nicht eliminiert? oder etwa erst in einer späteren Phase der Reifeteilung? Die Vermutung, daß letzteres der Fall sein könnte, liegt nahe. Der Verdacht fällt natürlich auf die zweite Reifeteilung, die wir vorgreifend darauf hin ansehen wollen.

Wenn wir uns der Seltenheit der ersten Reifeteilung ohne Elimination erinnern, so wird zum voraus gesagt werden können, daß zweite Reifeteilungen mit regelrechten Eliminationsplatten nur sehr selten auftreten können. Das Beweismaterial, das ich besitze, ist leider zu einem endgültigen Entscheid zu klein. Ich besitze höchstens 40—50 Anaphasen und Telophasen, brauchte aber im Hinblick auf die Seltenheit der ersten Reifeteilung ohne Elimination wohl einige Hundert. In einem Fall nun weist eine Spindel in der Äquatorialebene sicher eliminiertes Chromatin auf (Fig. 38). Möglicherweise sind die nachhinkenden Chromosomen in Fig. 5 und 14 ebenfalls als Eliminationschromatin aufzufassen; namentlich bei Fig. 14 halte ich es für sehr wahrscheinlich. Da jedoch beides Richtungskörper sind, und wir es hier mit frühzeitigem Auftreten von Degenerationserscheinungen zu tun haben könnten, können sie keineswegs beweisend sein. Textfig. 2*e*, S. 171, zeigt ferner eine Metaphase der zweiten Reifeteilung von *fuliginosa*, in welcher drei Chromosomen unzweideutig eliminieren. Eine Anaphase oder Telophase der zweiten Reifeteilung, wo analog, wie in der ersten Reifeteilung, eine Eliminationsplatte vorliegen würde, ist mir nicht zu Gesicht gekommen. Trotzdem glaube ich zum mindesten einen Indizienbeweis dafür erbracht zu haben, daß auch in der zweiten Reifeteilung eliminiert werden kann. Nun sind aber die Fälle, wo in der ersten Reifeteilung wenig Eliminationschromatin ausgeschieden wird, relativ häufig, und man hätte erwarten dürfen, daß gleich häufig in der zweiten Reifeteilung noch ein Restteil ausgesondert würde. Das ist nicht der Fall.

Es muß als absolut sicher erachtet werden, daß die Menge des Eliminationschromatins in verschiedenen Eiern verschieden ist. Da es für die weiblichen Vorkerne unwiederbringlich verloren ist, wie ich später zeigen werde, erheben sich die Fragen: ist der Gehalt an Chromatin der weiblichen Vorkerne verschieden? und sind die Größenordnungen unter den Chromosomen der Vorkerne verschieden? Auf den ersten Blick scheint, als ob die Fragen unbedingt mit einem Ja beantwortet werden müßten. Nun könnte aber ebenso gut die Quantität des Chromatins vor der Metaphase der ersten Reifeteilung in verschiedenen Eiern verschieden sein, und die Elimination könnte gleichsam von der vorhandenen Mitgift das zurückbehalten, was über ein normales, für die Art zukömmliches Mittel

hinausgeht, so daß alle Vorkerne ungefähr gleich viel erhalten würden. Eine weitere diskutierbare Möglichkeit gibt es wohl nicht. Entweder, die weiblichen Vorkerne erhalten eine verschieden große Mitgift an Chromatin, oder sie erhalten ungefähr alle dieselbe, aber dann müssen die zu verteilenden Schätze im Keimbläschen zu Beginn der Reifeteilung verschieden groß sein. Trifft die erste Möglichkeit zu, so werden wir zu erwarten haben, daß die Tochterplattenchromosomen nach der Elimination in verschiedenen Individuen verschieden groß sein werden, oder doch die Größenordnungen der Tochterplattenchromosomen außerordentlich variieren. Trifft die zweite Möglichkeit zu, so müssen die Äquatorialplattenchromosomen in verschiedenen Eiern verschieden groß sein. Die Alternative ist also durch direkte Beobachtung zu entscheiden. Das ist aber nicht leicht, denn überall lauern Fehlerquellen. Die Chromosomenbilder im Geschlechtschromosomenkapitel meiner Arbeit sind wohl alle mit großer Sorgfalt gezeichnet (mit Zeiss' Zeichenapp. n. Abbe, Z.-Ap. 2 mm n. A. 1,4 Oc. 18), und die relativen Chromosomengrößen innerhalb einer Chromosomenplatte stimmen gewiß meistens. Ich habe immer zuerst das größte Chromosom einer Platte gezeichnet, darauf das nächst kleinere, zuletzt das kleinste. Anders aber steht es mit der absoluten Größe. Ist das erste Chromosom etwas zu groß oder zu klein gezeichnet, so werden alle übrigen vergrößert oder verkleinert. Da ich jedoch die Chromosomenbilder alle, mit Ausnahme der Abbildungen für die vorläufige Mitteilung (Seiler 13), in einem Zuge gezeichnet habe, so ist es für mich wahrscheinlich, daß, wenn die wirkliche Chromosomengröße beim Zeichnen verändert wurde, das immer im gleichen Sinne geschehen ist. Aber dann die vielen andern Fehlerquellen: der verschiedene Grad der Differenzierung, verschieden gute Fixierung usw., namentlich aber die zu kleine Zahl der Vergleichsbilder! In Summa, der Entscheid, den ich mit meinem Abbildungsmaterial treffen kann, kann kein strikter Beweis sein. Ich hoffe jedoch, daß er höchstwahrscheinlich die tatsächlichen Verhältnisse richtig trifft.

Wir haben erfahren, daß sehr häufig nicht alle Chromosomen einer Spindel eliminieren. Wären nun in den Äquatorialplatten die für die Art typischen Chromosomengrößen vertreten, so müßten sie in den Tochterplatten sehr häufig variieren. Das Gegenteil ist aber der Fall. Die Tochterplatten aller untersuchten Arten zeigten immer die für die Art charakteristischen Chromosomengrößen. Das mag am besten hervorgehen durch genauen Vergleich der Äquatorialplatten der zweiten Reifeteilung von *dispar* (Textfig. 11, S. 237). Für die Tochterplatten der ersten Reifeteilung besitze ich kein so reiches Material. Was ich aber besitze, spricht

für die letztere Tatsache (vgl. Textfig. 3, S. 180, für *monacha*; 5, S. 202, für *fuliginosa*; 10, S. 235, für *dispar*). Durch diese Feststellungen sind aber unsre Fragen schon so viel wie entschieden. Wir können höchstens noch sehen, ob ein Vergleich der absoluten Chromosomengrößen auf dieselbe Lösung hindeutet. Namentlich dann sollte man große Tochterplattenchromosomen erwarten, wenn wenig oder gar nicht eliminiert wurde. Auch das trifft nicht zu. Die Größe der Tochterchromosomen scheint durch die Elimination gar nicht beeinträchtigt zu werden. Man durchmustere daraufhin die in der folgenden Tabelle angegebenen Abbildungen. »Viel« Eliminationsmaterial bedeutet für die zitierten Fälle, daß die Eliminationsplatte so groß oder größer ist, wie eine Tochterplatte, fast so stark, wie eine Tochterplatte ist sie bei »mittel«. Es sei jedoch zum voraus zugegeben, daß gerade diese Feststellung weniger beweiskräftig ist, als die früheren.

Art	Stadium	Quantum der Elimin.-Chrom.	Textfigur	
			Nr.	Seite
fuliginosa	Tochterplatten der ersten Reifeteilung	wenig	5 *b c*	202
»	»	viel	5 *d e*	202
»	»	sehr wenig	5 *f g*	202
»	»	wenig	5 *h i*	202
dispar	»	mittel	10 *d e*	235
»	»	nichts	10 *f g*	235
»	Äquatorialplatten der zweiten Reifeteilung	viel	11 *a b*	237
»	»	wenig	11 *e f*	237
»	»	»	11 *g h*	237
»	»	mittel	11 *c d*	237
»	»	»	11 *i k*	237
»	»	viel	11 *l m*	237
monacha	Tochterplatten der ersten Reifeteilung	»	3 *a b*	180
»	»	nichts	3 *c d*	180

Leider besitze ich bei allen Formen zu wenige Äquatorialplatten der ersten Reifeteilung, als daß ich sie vergleichend zur Lösung der Frage heranziehen könnte. Was ich jedoch habe, spricht im gleichen Sinne, wie die vorhin mitgeteilten Beobachtungen. Ich halte es somit für ziemlich sicher, daß die Größenordnungen der Tochterchromosomen immer dieselben sind, daß wahrscheinlich trotz der Elimination (oder eigentlich

gerade wegen der Elimination) alle weiblichen Vorkerne eine konstante Chromatinmenge erhalten, analog den männlichen Vorkernen, daß die Äquatorialplatten der ersten Reifeteilung nicht die für die Art charakteristischen Chromosomengrößen besitzen; vielmehr besitzen sie ein Plus an Chromatin, eben das Eliminationschromatin, das irgendwo auf dem Wege von der weiblichen Urkeimzelle bis zum reifenden Ei entstanden sein muß.

An der chromatischen Natur der Eliminationsplatte wird wohl kaum noch gezweifelt werden können. Trotzdem will ich die Resultate von Farbreaktionen, die angestellt wurden, mitteilen. Sie färbt sich, wie nicht anders zu erwarten ist, mit Kernfarbstoffen in der ersten Reifeteilung genau wie die Chromosomen; also mit Safranin-Lichtgrün rot, Delafield- oder Ehrlich-Hämatoxylin-Eosin blau usw. Irgend ein Unterschied konnte nicht festgestellt werden. Das mikrochemische Verhalten der Eliminationsplatte während der Interkinese und zweiten Reifeteilung habe ich nicht verfolgt.

Zusammenfassend können wir somit das Gesamtbild der Eliminationsvorgänge so zeichnen:

1. In der ersten Reifeteilung im Ei der Schmetterlinge *Ph. fuliginosa*, *L. dispar*, *L. japonica*, *L. monacha*, *O. antiqua* und *O. gonostigma* findet eine Chromatinelimination statt, wobei die Tochterchromosomen einen Teil ihres Chromatins abgeben.
2. Die Elimination verläuft sehr variabel, denn es ist:
   a) Der Eliminationsvorgang nicht ausschließlich an eine bestimmte Phase der Reifeteilung gebunden; in der Regel findet er zu Beginn der Anaphase statt, in allen Chromosomen zugleich, nicht selten aber verzögert er sich bei einzelnen Chromosomen, so daß dann während der Anaphase, selten noch während der Interkinese und Metaphase und Anaphase der zweiten Reifeteilung einzelne Chromatinbrocken abgegeben werden. Ob ausnahmsweise in der zweiten Reifeteilung eine vollständige Eliminationsplatte gebildet werden kann, ist nicht ausgemacht.
   b) Die Quantität des ausgesonderten Chromatins ist äußerst verschieden. In der Regel verlieren die Chromosomenplatten $^1/_4$—$^1/_2$ ihres Volumens, selten mehr, häufiger weniger, und vermutlich findet in seltenen Fällen überhaupt keine Elimination statt. Ferner ist der Chromatinverlust der einzelnen Chromosomen einer Tochterplatte sehr ungleich. Der Chromatinverlust von Tochterchromosomen ist dagegen gleich.

3. Die Größenordnungen der Vorkernchromosomen und wahrscheinlich auch die Quantität des Vorkernchromatins sind trotz der Elimination konstant.
4. Deshalb muß wohl die Quantität des Chromatins im Keimbläschen variieren.
5. Färberisch verhält sich die Eliminationsplatte in der ersten Reifeteilung genau wie die Tochterplatten.

Es mag vielleicht interessieren, was die ersten Untersucher der frühen Entwicklungsvorgänge im Schmetterlingei über die Elimination zu berichten wissen.

Platner (88) schreibt für die befruchteten und unbefruchteten Eier von *L. dispar*: »Die erste Reifeteilung wird vollendet durch Auftreten einer schönen Zellplatte. Eine solche findet sich in gleicher Weise bei allen späteren Teilungen, also auch bei denen der Furchungskerne.« Eine Zellplatte ist wohl, wie ich noch zeigen werde, in den Furchungsteilungen sowohl als in den Reifeteilungen vorhanden. Sie ist sehr schwach und wenig auffällig, nimmt Heidenhains Hämatoxylin nie auf und hat mit der Eliminationsplatte sicher nichts zu tun. — In diesem Zusammenhange kann die Beobachtung mitgeteilt werden, daß mir in einem Ei von *L. monacha* auf dem Blastodermstadium neben Spindeln mit gewöhnlicher Zellplatte einige wenige mit chromatischer Mittelplatte zu Gesicht gekommen sind, von denen ich vermute, daß es echte Eliminationsplatten sind. Vielleicht handelt es sich hier um eine pathologische Erscheinung. Henking (89, 90, 92), der berühmte Entdecker des Geschlechtschromosoms, untersuchte *Pieris brassicae*, *Bombyx mori*, *Leucoma salicis* und schreibt (88) über die Eliminationsplattenbildung für *P. brassicae*: »Bei der Bildung des ersten Richtungskörpers bleiben die auseinanderweichenden Chromatinstäbchen anfangs noch durch chromatische Brücken miteinander in Verbindung. Diese Brücken trennen sich dann von dem Stäbchen und werden zu kugeligen Elementen einer Mittelplatte.« Henking gibt also richtig die Herkunft des Eliminationsplattenchromatins an, erkannte aber den Unterschied nicht, der existiert zwischen der Lepidoptereneireifung und der der übrigen Insektengruppen, die er mit Ausnahme der Orthopteren und Neuropteren alle untersuchte; er gibt an, daß vollständige Übereinstimmung in allen Klassen der Insekten herrsche. Ich werde später zeigen, daß das nicht der Fall ist, daß der Typus, nach welchem die Eireifung der Lepidopteren sich vollzieht, bis jetzt kein Analogon im ganzen Tierreich hat. In einer vorläufigen Mitteilung kündet Miss Dederer (12) eine Arbeit über »Gametogenesis in

Philosamia cynthia« an. Ob die definitive Arbeit inzwischen erschienen ist, ist mir nicht bekannt. Die vorläufige Mitteilung gibt nur Auskunft über Chromosomenzahl während der Eireifung, worüber ich später referieren werde. Weitere Arbeiten existieren nicht.

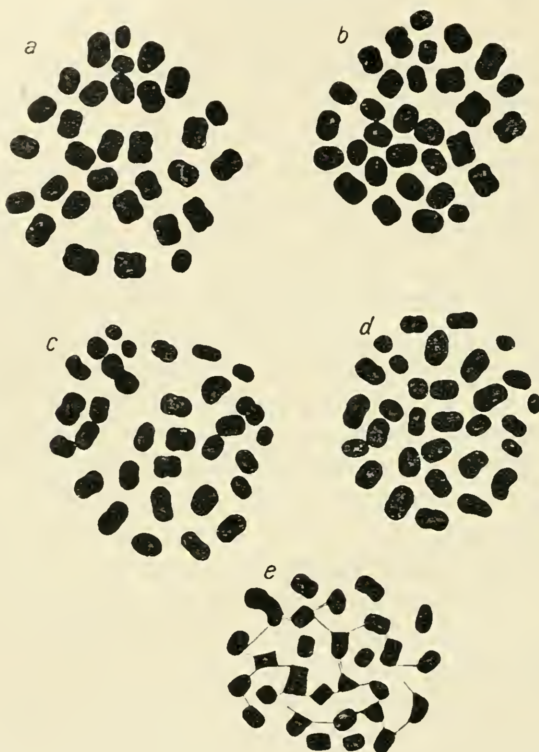
β) Die Chromosomenformen und die Spindel der Anaphase.

Erinnern wir uns rasch der Chromosomenformen der Metaphase. Die Chromosomen bei allen untersuchten Formen sind übereinstimmend in der Polansicht kurz stäbchenförmig, mit deutlicher Querkerbe; fraglich war die Existenz einer Kerbe an der Schmalkante. In Seitenansichten springt die Querkerbe wenig in die Augen, deshalb habe ich auf ihre Darstellung verzichtet, zudem ist während der ganzen Periode der Elimination davon überhaupt nichts zu sehen. Sind die Chromatinplatten gebildet, so werden die Chromosomenformen wieder bestimmter. In Seitenansichten erkennen wir deutlich, daß dieselbe Stäbchenform, wie ehedem, vorliegt (Fig. 25), und in Polansichten fällt wieder zuerst die alte Querkerbe auf, bei den Formen mit kleinen Chromosomen am wenigsten deutlich. Sie ist z. B. bei *antiqua* (Textfig. 2, S. 171) nur an wenigen Chromosomen erkennbar. Neben dieser Querkerbe zeigt sich aber nun gelegentlich mit großer Deutlichkeit die Kerbe an der Schmalkante, und ihr entsprechend ein schwacher Längsspalt am besten wohl bei *monacha* (Textfig. 3 *a*, *b*, *c*, *d*), und je besser die Präparate sind, um so deutlicher. An den kleinen Chromosomen ist sie nur selten und schwer konstatierbar, aber ich glaube sicher zu sein, daß sie auch hier vorhanden ist. Einzig bei *Orgyia* gelang es mir nicht, sie nachzuweisen; an ihrer Existenz jedoch zweifle ich keinen Moment.

Damit dürfte erwiesen sein, daß 1. die Elimination an der Chromosomenform nichts ändert, höchstens daß vorhandene Skulpturen nach dem Aussonderungsprozeß deutlicher hervortreten, 2. wird jetzt klar sein, daß wir als Ausgangspunkt für die Reifeteilung eine sogenannte Ditetrade haben, bei deren Teilung zwei Tetraden, — besser Pseudotetraden, denn um wirkliche Tetraden handelt es sich natürlich nicht — resultieren. Die Tetradenform ist nur in der frühen Anaphase deutlich, am deutlichsten etwa auf dem Stadium, das die Fig. 25 wiedergibt. Gegen Ende der Anaphase, oder zu Beginn der Interkinese, wenn die Chromosomen an den Spindelpolen gedrängt zu liegen kommen, verschwinden ihre Skulpturen langsam, zugleich macht sich eine Volumenkontraktion bemerkbar, die andauert bis gegen die zweite Reifeteilung. Sobald sie rückgängig gemacht wird, erscheinen auch die alten Kerben an den Chromosomen

wieder. Von dieser Volumenkontraktion mag Textfig. 6, S. 204, die beste Vorstellung geben. 1—25 sind homologe Chromosomenpaare, während verschiedener Phasen der Reifeteilung; 1—16 von frühen bis späten Anaphasen, 16—25 aus Prophasen und Metaphasen der zweiten Reifeteilung.

Textfig. 3.



ab und *cd* Tochterplatten der ersten Reifeteilung aus dem Ei von *Lymantria monacha*. *e* Äquatorialplatte der zweiten Reifeteilung. Vergr. 4080.

Die erste Reifungsspindel ist ellipsoidisch und besitzt ein reiches, kompliziertes, zartes Faserwerk. Über die eigentliche Spindel hinaus verlaufen von jedem Pol frei im Plasma endigende, sich kreuzende Fasern, die die Spindel gleichsam fest verankern (Fig. 25 u. 26), die aber gewöhnlich der dichten Fixierung des Plasmas halber nicht sichtbar sind. Leicht sind in der Spindel zweierlei Fasern zu unterscheiden, solche, die von Pol zu Pol ziehen, die Stützfasern und andre, die in ganzen Büscheln an den Tochterchromosomen ansetzen und nach den zugehörigen Polen

ziehen, die sogenannten Zugfasern (Fig. 19—23), die, wenn die Chromosomen gedrängt liegen, den Eindruck einer Spindel in der Spindel erregen (Fig. 19 u. 26). Interessant und instruktiv dürfte sein, daß neben der Eliminationsplatte auch eine wenig starke, achromatische Mittelplatte gebildet wird, die selbstverständlich am deutlichsten in die Augen springt in Spindeln, wo kein oder wenig Eliminationschromatin vorhanden ist (Fig. 30—32). Sie ist aber auch oft — nur bald mehr, bald weniger deutlich — neben einer Eliminationsplatte nachweisbar (Fig. 1, 4, 6 u. 7). Wir wollen diese Beobachtung für die spätere Diskussion über Beziehungen zwischen Eliminations- und Mittelplatte im Auge behalten.

Sind die Chromosomenplatten an den Polen angekommen, so beginnt die Spindel zu wachsen, sich zu strecken und zu weiten. Die Fig. 30, 31, 32 und 40 sollen aufeinanderfolgende Stadien illustrieren, und zwar für solche Fälle, wo kein oder wenig Eliminationschromatin vorhanden ist. Ist viel vorhanden, so ändert sich das Bild wesentlich. Es will scheinen, als ob die Fasern, in dem Eliminationschromatin stecken bleibend, der Kraft, die sie nach außen treiben will, in der Mitte nicht gehorchen könnten, wohl aber in den Bezirken zwischen der Eliminationsplatte und den Spindelpolen, so daß geschnürte Spindelformen entstehen, wie sie Fig. 26 in einem Anfangsstadium und Fig. 9 in einem Endstadium zeigen.

In der späten Anaphase bildet sich innerhalb der Spindelfigur um die Chromosomenplatten ein Hof feinkörniger Substanz (Fig. 26, 30, 31, 32 u. 40), die augenscheinlich aus den Spindelbezirken gegen die Pole zusammengeströmt ist und ihrer Herkunft nach höchstwahrscheinlich zum Teil wenigstens Kernbestandteil ist, vermutlich entstanden durch die allmähliche Auflösung der Spindel. Der Hof ist namentlich bei den *Lymantria*-Arten so scharf umgrenzt, daß man vermuten könnte, ein Ruhekernstadium würde sich vorbereiten. So weit kommt es jedoch nicht. Wenn auch diese Kernbezirke durch die Interkinese (Fig. 30) bis in die Metaphase der zweiten Reifeteilung (Fig. 37) vom umgrenzenden Plasma immer deutlich sich abheben, so gelingt es doch nie, eine Kernmembran nachzuweisen. Bei *fuliginosa* erfolgt die Einziehung der alten Spindelsubstanz langsamer, verzögert sich bis in die Prophasen der zweiten Reifeteilung, wo erst der Kernbezirk, der bei *Lymantria* schon so früh sichtbar ist, sich deutlich umgrenzt (Fig. 15).

e) Interkinese.

Die Anaphase der ersten Reifeteilung findet damit ihren Abschluß, daß die Spindelfasern in der Mitte aufgelöst werden. Die Veränderungen im reifenden Ei von diesem Zeitpunkt an bis zur Ausbildung der zweiten

Reifungsspindel seien unter dem Titel »Interkinese« beschrieben. Sobald die Mittelstücke der Spindelfasern sich auflösen, beginnt die innere Spindelhälfte gegen das Eicentrum zuzuwandern. In dem Maße, wie sie vorrückt, strömt vom Keimhautblastem Plasma nach, ergießt sich in die freiwerdende Lücke um die Eliminationsplatte und folgt der centralen Spindelhälfte. Von dieser Strömung wird auch die Eliminationsplatte ergriffen, auch sie wandert mit, wenn auch meist langsamer, so daß ihr Abstand vom ersten Richtungskörper im allgemeinen kleiner ist, als der von der inneren Spindel. Gelegentlich rückt selbst der erste Richtungskörper eine kurze Strecke vor (Fig. 15). Die Tendenz, der inneren Polplatte der ersten Reifeteilung nach dem Eicentrum zuzustreben, zeigt sich schon früh. Stand die Spindel schief zur Oberfläche, so wird sie, wenn sie noch völlig intakt ist, die Interkinese also noch nicht begonnen hat, gegen das Eicentrum abgebogen. Diese Beobachtung widerlegt den Versuch Henkings, durch die Annahme einer gegenseitigen Abstoßung der Seitenplatten von der Mittelplatte, die Evolutionen der Kernhälften in der Interkinese zu erklären. Zum mindesten wären weitere Hilfsannahmen notwendig.

In den Einzelheiten verhalten sich während dieser Periode die untersuchten Formen etwas verschieden. Die Interkinese beginnt für *fuliginosa* mit Stadien, wie sie die Fig. 8 und 9 wiedergeben. Bereits rückt das Plasma zwischen die beiden Spindelhälften. Etwa vom Stadium der Fig. 12 an gelingt es nicht mehr, die volle haploide Chromosomenzahl, die für *fuliginosa* 28 beträgt, zu zählen. Ja auf einem etwas älteren Stadium finden wir sogar nur noch ungefähr die Hälfte der 28 Chromosomen (Fig. 10 u. 11). Ihre Formen sprechen dafür, daß eine paarweise Bindung stattgefunden hat, eine sogenannte Chromosomenkoppelung. Von den untersuchten Formen scheint nur noch *gonostigma* ähnliche Verhältnisse aufzuweisen. Hier scheint die Koppelung schon mit Beginn der Interkinese sich zu vollziehen. Fig. 29 gibt ein solches Stadium wieder (die Spindel liegt schief im Präparat, in Wirklichkeit sind die Platten also etwas weiter auseinander). In der äußeren Chromosomenplatte, die vollständig ist, wird es nicht gelingen, die haploide Chromosomenzahl, die für *gonostigma* 30 ist, herauszuzählen. Man kommt auf 15, oder etwas mehr. Mein Beweismaterial für diese Stadien ist jedoch, sowohl bei *fuliginosa* als auch bei *gonostigma*, etwas mager, so daß ich die Sicherstellung dieser Beobachtung ferneren Untersuchungen anheimstellen muß und nur noch erwähnen will, daß Chromosomenkoppelung im Tierreich keine allzu seltene Erscheinung ist und schon längst bekannt war, namentlich aus Hymenopterenarbeiten (vgl. Nachts-

HEIM 13). Sehr wohl vergleichen läßt sich die Chromosomenkoppelung der Lepidopteren mit der bei *Dendrocoelum*, von GELEI (13) aufgedeckten. Hier wie dort findet die Bindung in der späten Anaphase statt und wird vor der nächsten Teilung wieder aufgehoben, nur sind es bei *Dendrocoelum* die Ovogonien, in deren Telophase sich die Chromosomen paarweise innig aneinanderlegen und lückenlos verkleben, bei Lepidopteren die Ovocyten erster Ordnung. Vielleicht handelt es sich in beiden Fällen um nichts weiteres, als um eine Anpassungserscheinung an beschränkte Raumverhältnisse.

Bei den *Lymantria*-Arten findet sicher keine Bindung statt. Hier zeigt sich im Verhalten der Chromosomen stark die Tendenz, einem Ruhekernstadium zuzustreben; von den achromatischen Kernbestandteilen von *Lymantria* haben wir früher dasselbe mitgeteilt. Die Chromosomen treten in Verbindung miteinander durch chromatische Brücken, verschmelzen teilweise, und wir erhalten ganz ähnliche Bilder, wie wir sie von der Prophase der ersten Reifeteilung (Fig. 17) her kennen. Erst in der Prophase der zweiten Reifeteilung individualisieren sich die Chromosomen wieder aus diesen Verbänden heraus. Textfig. 3 *e*, S. 180, zeigt für *monacha* ein solches Übergangsstadium. Charakteristisch für alle untersuchten Formen ist, daß die Chromosomen immer mehr oder minder in der alten Tochterplattenebene verbleiben von der Anaphase der ersten Reifeteilung durch die Interkinese (Fig. 30) bis zur Metaphase der zweiten Reifeteilung.

f) Die zweite Reifeteilung.

Sobald die Wanderung des zukünftigen weiblichen Pronucleus gegen das Eicentrum zu stockt, bereitet sich die zweite Reifeteilung vor. Die Spindelfasern der ersten Reifeteilung sind jetzt auch bei *fuliginosa* verschwunden und in den längst vorgebildeten, während der späten Anaphase und Interkinese entstandenen, deutlich umgrenzten Kernterritorien entsteht die zweite Richtungsspindel und, ungefähr gleichzeitig, die des ersten Richtungskörpers, und zwar senkrecht zu den immer noch mehr oder minder in einer Ebene liegenden Chromosomen. Die gegenseitige Orientierung der Spindeln ergibt sich für meine Eier aus zwei Beobachtungstatsachen, 1. daraus, daß die Spindel des ersten Richtungskörpers immer gleich gerichtet ist, wie die erste Reifungsspindel; 2. daraus, daß unbekümmert um die Lage der ersten Reifungsspindel die centrale Kernhälfte nach der Trennung immer direkt gegen das Eicentrum zuwandert und ebenso orientiert ihre Spindel sich anlegt. Daraus folgt, daß die beiden Spindelachsen in die Verlängerung zueinander zu liegen kommen, wenn die erste Reifungsspindel senkrecht zur Eioberfläche

stand (Fig. 13—15, 33—35, 38), war sie schief oder parallel zur Oberfläche, so bilden die beiden Achsen einen Winkel miteinander (Fig. 39).

Nun aber zur Hauptsache. Wie werden die Chromosomen in der zweiten Reifeteilung geteilt? Welches ist das Schicksal unsrer Pseudotetraden? Findet eine Quer- oder Längsteilung statt? Da die Querkerbe am meisten imponierte, vermuteten wir, die zweite Teilung würde eine Querteilung sein. Das Gegenteil ist der Fall. Die zweite Reifeteilung ist wieder eine Längsteilung. Schon das Stadium der Metaphase belegt das unzweideutig; am eindringlichsten die Polansichten. Übereinstimmend bei allen Arten, von denen ich die Metaphase der zweiten Reifeteilung untersucht habe (*fuliginosa*, *dispar*, *monacha*, *gonostigma*), liegen die Längsachsen der kurz stäbchenförmigen Chromosomen in der Äquatorialebene und deutlich zeigt sich die alte, nun rätselhaft gewordene Querkerbe. Suchen wir aber nach der Kerbe an der schmalen Kante, so finden wir sie in Polansichten nicht, wohl aber in Seitenansichten. Die Chromosomen haben sich also um 90° um ihre Längsachse gedreht. Man durchmustere daraufhin die Chromosomenplatten von *dispar* (Textfig. 11, S. 237), und *fuliginosa* (Textfig. 7*a* u. *b*, S. 205), die die Chromosomenformen so genau wie immer möglich wiedergeben.

In Seitenansichten von Spindeln könnte man gelegentlich zweifeln, ob wirklich eine Längsteilung stattfindet; nämlich dann, wenn die Längskanten der Chromosomen auf den Beobachter zulaufen (Fig. 34, innere Spindel). Doch zeigen auch Seitenansichten oft deutlich, daß wirklich der Längskante nach geteilt wird (Fig. 34, äußere Spindel). Endgültig zugunsten der Längsteilung entscheidet die Frage die Anaphase, die bei *gonostigma* (Fig. 38) und bei *dispar* (Fig. 35) dieselben kurz stäbchenförmigen Chromosomen aufweist, die ehedem vorlagen; auch die Querkerbe ist oft noch erkennbar, was natürlich am deutlichsten bei der Form mit den größten und längsten Chromosomen, bei *dispar*, zum Ausdruck kommt. Damit dürfte erwiesen sein, daß

1. beide Reifeteilungen Längsteilungen sind,
2. die Teilungsebenen senkrecht aufeinander stehen,
3. die Querkerbe keine Teilungsebene andeutet.

Das sind vorläufig die einzigen Beobachtungstatsachen, die ich zur Beantwortung der wichtigsten und schwierigsten Frage der modernen Cytologie, der Frage nach dem Vorkommen einer Reduktionsteilung herbeischaffen kann. Es ist ohne weiteres klar, daß sie noch keineswegs genügen zu ihrer Beantwortung. Dazu müßte vor allen Dingen die Genese dieser

sonderbaren Tetrade, der Ditetrade, aufgeklärt werden. Der Versuch dazu soll in einem späteren Kapitel angestrebt werden.

Wie schon früher festgestellt wurde, ist der wesentlichste Unterschied zwischen erster und zweiter Reifeteilung der, daß in der letzteren nicht eliminiert wird, oder doch nur höchst selten, ausnahmsweise. Die Anaphase verläuft rascher, als die der ersten Teilung, vielleicht eben weil keine Elimination durchgemacht werden muß, vielleicht auch ist ein rascher Verlauf für die zweite Reifeteilung charakteristisch. Zum mindesten trifft man diese Angabe in der Literatur äußerst häufig. Wieder wird eine schwache, achromatische Mittelplatte gebildet (Fig. 13, 14, 30), die aber, wie es scheint, gelegentlich fehlen kann (Fig. 35). Das gleiche gilt auch für die erste Reifeteilung; es müßte denn gerade sein, daß die Mittelplattenbildung, die sonst gewöhnlich in der frühen Anaphase stattfindet (Fig. 13, 38), hie und da sehr spät beginnt.

Schon längst wird es aufgefallen sein, daß das Tempo der Teilung in der äußeren Spindel nicht dasselbe ist, wie in der inneren. Als Regel kann angegeben werden, daß die Teilung des ersten Richtungskörpers langsamer sich vollzieht (Fig. 13, 14, 38, 35). Also schon jetzt macht sich ein Erschlaffen der Lebensenergie im ersten Richtungskörper bemerkbar. Daß er dem Untergange entgegeneilt, zeigt sich namentlich beim Vorrücken der Chromosomen. Während in der inneren Spindel die Tochterplatten geschlossen vorrücken, bleiben im ersten Richtungskörper meist einzelne Chromosomen zurück und liegen noch zerstreut auf der Spindel, wenn in der Telophase der große Haufen schon längst verklumpt ist (Fig. 5, 14).

Damit ist die zweite Reifeteilung vollendet. In einer Reihe liegen nun von außen nach innen: der erste Richtungskörper, sein Deszendent, der Eliminationskern, der zweite Richtungskörper, und endlich zu innerst der weibliche Pronucleus. Jetzt setzt die Vorbereitung zur Kopulation ein. Bevor wir die schildern, sei das Schicksal des Eliminationschromatins verfolgt.

g) Schicksal der Eliminationsplatte.

Wir kennen das Verhalten der Eliminationsplatte bis zur späten Anaphase. Die Veränderungen, die während der Interkinese und zweiten Reifeteilung stattfinden, sind derart variabel und derart reich an Nüancen, daß ich nur wenige, häufig wiederkehrende Typen beschreiben kann. Das mag genügen, denn das Ende, das bei der herrschenden Gesetzlosigkeit vorausgeahnt werden kann, ist überall dasselbe: vollständige Auflösung.

1. Wenn die Spindel zu Beginn der Interkinese gerissen ist, manchmal, namentlich bei *fuliginosa*, schon früher, beginnt das Eliminationschromatin sich langsam aufzulockern, faserig zu werden, sich zu verflechten zu einem Netzwerk und schließlich sehen wir als Endresultat aller Umwandlungen ein kernartiges Gebilde, das ich Eliminationskern nennen will, vor uns. Sehr wahrscheinlich besteht der Eliminationskern nicht ausschließlich aus Eliminationschromatin. Ich vermute, daß zu seiner Bildung auch die sich auflösenden Mittelstücke der Spindelfasern Material beisteuern. Er ist oft in einen Hof hellen Plasmas eingebettet (Fig. 13) und von der Umgebung so scharf abgegrenzt, daß man wohl auf das Vorhandensein einer Membran schließen möchte. Ob tatsächlich eine vorliegt, kann ich nicht sicher angeben. Dieser Eliminationskern, der bei allen untersuchten Formen häufig angetroffen wird, ändert während der Telophase der zweiten Reifeteilung sein färberisches Verhalten. Er wird langsam oxychromatisch, färbt sich plasmatisch; bei Färbung mit Heidenhain Hämatoxylin-S.-Fuchsin also lichtrot. Damit schwinden seine scharfen Konturen, er schrumpft ein, hebt sich immer weniger vom Plasma ab und verschwindet schließlich in den Prophasen zur Kopulation vollständig.

2. Die Eliminationsplatte der späten Anaphase der ersten Reifeteilung zerstäubt langsam, zerfällt teilweise in kleine Chromatinklümpchen, die auseinanderweichen, regellos zerstreut liegen bleiben, oder sich teilweise auf einer Kugeloberfläche ansammeln und einen hellen Raum umgrenzen, der oft den Restteil des Eliminationschromatins, in sonderbar verklumpten Formen, einschließt (Fig. 35). Oder endlich, es kommt zur Bildung eines regelrechten Eliminationskernes (Fig. 39), der jedoch, ohne je ein Reticulum gebildet zu haben, allmählich verschwindet.

3. Nicht selten verklumpt das Eliminationschromatin vollständig (Fig. 15), nur wenige kleine Bröckchen springen ab und liegen in einem hellen Hof, oder beim Zusammenfließen des Chromatins bilden sich mannigfaltige, eigenartige Chromatinfiguren (Fig. 38). Wieder, wie bei den früheren Typen, folgt langsames Einschrumpfen und spurloses Verschwinden.

4. In der Interkinese sehen wir die Eliminationschromosomen mehr oder minder zerbröckelt, eingestellt in der alten Äquatorialebene (Fig. 33). Dieses Bild ruft sofort die Frage wach: findet hier vielleicht eine Teilung statt? Wenig spätere Stadien geben die Antwort. Tatsächlich sehen wir, daß die feinen Chromatinbröckchen beiderseits von der Äquatorialebene vorrücken und zwar gelegentlich in einer Ebene, gleichsam in Tochterplatten, während das gröbere Zeug in der Mitte verklumpt liegen bleibt

(Fig. 34). Aber noch auffälliger! In seltenen Fällen kommt es geradezu zu unzweideutigen Versuchen, eine Spindel auszubilden (Fig. 41) und nochmals wird augenscheinlich eine Anstrengung gemacht, einen Eliminationsprozeß durchzuführen. In theoretischer Beziehung ist diese Beobachtung sehr interessant. Sie weist auf einen ursächlichen Zusammenhang hin zwischen Chromosom und der Ausführung einer Teilung und Ausbildung eines Teilungsapparates und scheint dem alten Boverischen Satze »Der Kern teilt sich nicht, er wird geteilt« zu widersprechen.

Wie bereits mitgeteilt, verschwindet das Eliminationschromatin in dieser oder andrer Form gewöhnlich kurz nach der Telophase der zweiten Reifeteilung. Hier und da aber verharrt es länger, bis in die Telophase der ersten Furchungsteilung oder noch länger, und zwar in den von mir beobachteten Fällen immer in Form von sehr kleinen, mit Heidenhains Hämatoxylin sich färbenden Gebilden, die sicher vom Typus 2 abgeleitet werden müssen (Fig. 59, 61). Sie erinnern an Kerne oder etwa an Karyomeriten, besitzen im Innern meist ein größeres Chromatinkügelchen, um das staubförmig verteiltes oder faseriges Chromatin einen kugeligen Raum abgrenzt, gleichsam eine Membran darstellend. Die Gebilde liegen im Richtungsplasma zerstreut, ziehen interessanterweise aus diesem Bezirk aus und beginnen, von der Region der Richtungskörper im Keimhautblastem nach allen Richtungen auszuwandern. Ihrer großen Zahl nach möchte man auf eine Vermehrung schließen. Welches das Schicksal dieser kleinen »Kerne« ist, ist mir unbekannt.

Henkings Angaben (90, 92) über das Verhalten des Eliminationschromatins stimmen nicht, auch wenn Verschiedenheiten zwischen seinen Formen und den meinigen existieren sollten, was übrigens kaum der Fall sein wird. Nach ihm verschwindet die Mittelplatte (meine Eliminationsplatte) in der späten Anaphase. Wenn die Spindelhälften auseinanderrücken, entsteht zwischen ihnen ein heller, kreuzförmiger Hof, nach seiner Meinung bestehend aus achromatischer Substanz, die einerseits aus dem alten Eikern stammt, anderseits vom Plasma erzeugt wird. »Feine Körperchen, welche gelegentlich am Rande der Figur (der helle Bezirk) und auch weiter im Innern angetroffen werden . . . haben meiner Meinung nach mit den Körnchen der Mittelplatte nichts zu schaffen, . . . sie mögen aus dem zur Vermehrung der achromatischen Substanz verbrauchten Plasma übrig geblieben sein. . . . Schon eher mit der ursprünglichen Mittelplatte in Verbindung zu setzen sind größere Kügelchen, welche gelegentlich in dem Mittelraum . . . ins Auge fallen« (S. 514, [90]). Die feinen Körnchen am Rande und im Innern der hellen Figur sind zweifellos Eliminationsplattenmaterial. Der helle Hof aber ist größten-

teils ein Artefakt, dadurch entstanden, daß bei der Fixierungsmethode Henkings die Spindelstrukturen vollständig zerstört wurden und an ihrer Stelle nichts, wie ein heller Raum blieb, der nun natürlich, je nachdem die Reifeteilung mehr oder minder weit vorgeschritten ist, eine andre Form zeigt. Zu Beginn der Interkinese mag er kreuzförmig sein; die beiden Spindelhälften bilden zusammen den einen Doppelarm des Kreuzes, und senkrecht dazu entsteht in der Zone, wo die Mittelstücke der Spindelfasern sich auflösen und das Eliminationschromatin liegt, der andre Arm. In den späteren Phasen, wenn die Spindelhälften weit auseinander gerückt sind, etwa während der Metaphase der zweiten Reifeteilung, liegen die Chromosomen der inneren und äußeren Spindel, nach den Abbildungen Henkings, je in einem scharf abgegrenzten, hellen Raum; zwischen beiden ist ein dritter heller Raum in der Gegend des Eliminationschromatins und der Spindelfaserreste, der gelegentlich noch Chromatintrümmer aufweist. Das ist Henkings achromatischer Richtungskörper oder Telyid, das er, da er fast ausnahmslos mit heißem Wasser fixierte (bei Fixierung mit Flemmings Flüssigkeit war es nicht vorhanden, S. 58, 1892), bei allen Insektenordnungen, die er untersuchte, wiederfand.

So viel darf als sicher aus diesen Mitteilungen entnommen werden, daß bei *P. brassicae* genau dieselben Verhältnisse existieren, wie bei den von mir untersuchten Formen. Für *B. mori* und *Leucoma salicis* erwähnt Henking nur die Anwesenheit des Telyid. Ob überhaupt bei diesen beiden Formen eliminiert wird, ist aus den Abbildungen nicht zu ersehen.

Über mutmaßliche Bedeutung der Elimination werde ich, unter Heranziehung aller bisher bekannt gewordenen, ähnlichen Phänomene, im allgemeinen Teil meiner Arbeit kurz diskutieren.

2. Das Spermatozoon im Ei, Bildung der Vorkerne, Kopulation und Schicksal der Richtungskörper.

Meine Schilderung der Schicksale des Spermatozoons im Ei ist lückenhaft, und bedarf der Ergänzung durch spätere Untersuchungen. Wenn ich trotzdem meine Beobachtungen wiedergebe, so geschieht es deshalb, weil für die Geschlechtschromosomenfrage und die Reduktionsprobleme die Kenntnis der Kopulation und ihrer Prophasen wünschenswert ist und weil die schon bestehenden Angaben über die Geschichte der Spermatozoen im Ei von Henking und Platner revidiert werden müssen.

In der frühen Anaphase, wenn eben die Elimination im Gange ist, dringt das Spermatozoon aus der dünnen Schicht des Keimhautblastems unter der Mikropyle in die Dotterregionen über. Es besitzt schon auf

diesem Stadium den sehr charakteristischen, scharf umrissenen, dichtkörnigen Plasmahof — mit Unrecht »Spermastrahlung« genannt, — dessen Entstehung ich nicht verfolgen konnte. Es ragt über denselben in der Richtung gegen das Eicentrum zu ein beträchtliches Stück hinaus, liegt also exzentrisch und zwar so, daß das Spermaplasma dem Spermatozoon bei seiner Wanderung gegen das Innere nachfolgt; selten ist mir die umgekehrte Orientierung zu Gesicht gekommen. In einem einzigen Fall ist es mir gelungen, in dem Spermaplasma die wirkliche Strahlung zu sehen (Fig. 43). Ein winziges Centriol ist vorhanden. Davon geht eine zarte Strahlung aus, die auf den ganzen Bezirk des Spermaplasmas sich erstreckt. Gewöhnlich aber sieht man weder das Centriol noch die Strahlung. Über die Herkunft des Centriols kann ich nichts aussagen. Henking (90) hatte mehr Glück: »Man bemerkt hier, daß an dem Spermatozoon zwei Abschnitte zu unterscheiden sind, ein stärker gefärbter fadenförmiger Kopfteil und dahinter ein viel undeutlicherer Faden. Etwa an der Stelle, wo beide ineinander übergehen, liegt ferner eine deutliche helle Stelle im Plasma und es scheint, als befände sich in ihr noch ein kleines Körperchen.« Um dieses Körperchen »findet sich ein Häufchen anders aussehender Substanz, und dieses Häufchen ist noch dadurch ausgezeichnet, daß in der Plasmaumgebung eine schwache Strahlung selbiges zum Mittelpunkt nimmt.« Den hellen Hof nennt er Arrhenoid und glaubt darin ein Homologon zum Telyid gefunden zu haben, Vorstellungen, die nur noch ein historisches Interesse beanspruchen dürfen, denn sowohl Arrhenoid wie Telyid sind Artefakte. Wohl ist auch bei meiner Fixierung um das Spermatozoon gelegentlich ein kleiner heller Hof erkennbar (Fig. 46); aber der kann unmöglich Henkings heller Hof sein, denn dieser liegt bald da, bald dort (vgl. seine Fig. 59—68, 1890) und variiert ebenso in seiner Ausdehnung. Unzweifelhaft aber ist das kleine Körperchen, das Mittelpunkt einer Strahlung ist, nichts andres als das Centriol, das aus dem Spermatozoon austritt. Diese Beobachtung Henkings ist deshalb von großem Wert, weil heute verschiedentlich an der alten Theorie Boveris von der Persistenz des männlichen Centriols gezweifelt wird. Für die Lepidopteren trifft sie zu. Unzweifelhaft aber existieren in einigen Tiergruppen Ausnahmen, denn es steht fest, daß unter gewissen Umständen das Ei die Centriolen zu liefern vermag. Den schönsten Beleg dafür erbringt die Untersuchung Nachtsheims (13), die sicher stellt, daß bei *Apis mellifica* in der ersten Furchungsteilung im unbefruchteten Ei, dem Drohnenei, Centriolen vorhanden sind. Nach Kahle (08) besitzt sogar schon die Reifespindel der Eier der parthenogenetischen *Miastor*-Larven Centriolen.

Die Form des Spermatozoons ist lang, fadenförmig. Ob der Schwanzteil ins Ei eindringt, weiß ich nicht; dringt er ein (nach Henking trifft das zu), so muß er früh aufgelöst werden. Der Kopfteil ist eigentümlich geknotet (Fig. 43), was sehr wahrscheinlich zurückzuführen ist auf eine spiralige Verdickungsleiste des Spermatozoons, die später sichtbar wird (Fig. 45).

Gewöhnlich dringt nur ein Spermatozoon ins Ei ein, häufig aber auch zwei, selten drei. Bei den *Lymantria*-Arten finden sich sehr häufig zwei Spermatozoen im selben Ei. Die Behauptung Platners (88), daß Polyspermie nur bei pathologischen Eiern vorkomme, stimmt nicht, denn in der späteren Entwicklung zeigt sich zwischen Eiern mit nur einem, und solchen mit zwei oder drei Spermatozoen auch nicht der geringste Unterschied. Das Schicksal der überzähligen Samenfäden ist verschieden. In seltenen Fällen bleiben sie schon im Keimhautblastem stecken und degenerieren; nur eines dringt zwischen die Dotterschollen vor (in Fig. 42 das mit der »Strahlung«); gewöhnlich rücken jedoch alle in den Dotter vor und der endgültige Sieger ist lange nicht erkennbar, weil die Veränderungen anfangs in allen dieselben sind. Da die Spermafäden immer in ordentlichem Abstand voneinander sich befinden, mag auch für die Lepidopteren die Rückertsche Vermutung (91) stimmen, daß die Spermatozoen sich gegenseitig abstoßen, und daß derjenige Sieger bleibt, der in der günstigsten Situation dem weiblichen Vorkern gegenüber seine Konkurrenten sich vom Leibe hält.

Der Weg, den das Spermatozoon gegen das Eicentrum zu zurücklegt, ist sehr klein und die Bewegung langsam. In dem Maße, wie sie vorschreitet, findet in den umgebenden Dotterkugeln eine Aufhellung, Auflockerung statt, die sich trichterförmig weit ins Eiinnere, bis etwas über das Centrum hinaus erstreckt. Dabei werden die Grenzen der Dotterkugeln, namentlich in der allernächsten Nähe des Spermatozoons unscharf, der Inhalt ist so aufgelockert, daß man im Zweifel sein kann, ob man wirklich noch die alten Dotterkugeln, oder ein weitmaschiges, feinkörniges Plasma vor sich hat (Fig. 50, 51). Offenbar findet eine Umwandlung von Dotter in Plasma statt.

Wenn das Vorrücken des Spermatozoons stockt (die Endstation zeigt die Textfig. 4, S. 191), so beginnt das Chromatin, das in dem zarten Faden zusammengedrängt ist, sich aufzulockern. Der Eikern befindet sich zu dieser Zeit in der späten Anaphase. Die Auflockerung beginnt an den Fadenenden (Fig. 44) und in dem Maße, wie sie fortschreitet, findet eine Verkürzung des ganzen Spermafadens statt; die Form wird gedrungener und plumper. Jetzt wird, während der Interkinese, eine spiralige Ver-

dickungsleiste sichtbar (Fig. 45). Die wird dann, wenn die Verkürzung weiterschreitet, immer weniger deutlich und ist auf dem Endstadium, zur Zeit der Metaphase der zweiten Reifeteilung, wenn das Spermatozoon fast kugelig, ovoid, geworden ist (Fig. 46), nicht mehr erkennbar. Während im Eikern die Anaphase der zweiten Reifeteilung stattfindet, zeigen sich im Spermatozoon die ersten Anzeichen der Aufhellung des Chromatins. Das ist der Zeitpunkt, wo die überzähligen Spermatozoen zu degenerieren beginnen, denn nach meinen Beobachtungen, wandelt sich immer nur eines zum männlichen Vorkern um. Gelegentlich, namentlich bei *monacha* (Fig. 47 u. 48), auch bei *fuliginosa* (Fig. 49), beginnt die Aufhellung des Chromatins schon früher. Unregelmäßig geformte Bezirke der spindelförmigen Samenfäden nehmen HEIDENHAINS Hämatoxylin nicht mehr auf, färben sich mit S.-Fuchsin hellrot und scheinen von einer nahezu homogenen Flüssigkeit erfüllt. Doch gewöhnlich setzen diese Änderungen erst ein, wenn das Spermatozoon ovoid geworden ist, und zwar verlaufen genau dieselben Vorgänge ungefähr gleichzeitig im männlichen und weiblichen Vorkern und in den drei Richtungskörpern. Mit dem Umschlag von der Basichromatizität zum oxychromatischen Zustand geht Hand in Hand eine starke Volumenvergrößerung, wie das die Fig. 50—52 zeigen, die aufeinanderfolgende Stadien der männlichen Vorkerne von *dispar* wiedergeben. Zu Beginn der Volumenvergrößerung beginnt der weibliche Vorkern aus dem Richtungsplasmabezirk auszuwandern, dem männlichen Vorkern entgegen, der ruhig auf seinem Platze verharrt. In der Textfig. 4 hat der weibliche Pronucleus die Hälfte seines Weges zurückgelegt. Er besitzt keinen Plasmahof, wie der männliche Vorkern, ist darum meist sehr schwer auffindbar.

Textfig. 4.



Sagittalschnitt durch das Ei von *L. dispar*. In der Mitte des Eies eine Plasmainsel. Im Richtungsplasma die drei Richtungskörper. Weiblicher Vorkern auf der Wanderung dem männlichen entgegen.

Inzwischen ist die Aufhellung der Dottermassen, die vermutlich vom Spermatozoon verursacht wird, weiter fortgeschritten. Die helle Zone, die dadurch entsteht, zeigt bei den untersuchten Schmetterlingsarten

spezifische Form und Ausdehnung, sie ist z. B. bei *fuliginosa* einfach trichterförmig, bei *Lymantria* dagegen pilzförmig (Textfig. 4), wobei der Stiel des Pilzes der Mikropylenregion aufsteht, und der Pilzhut das Eicentrum überdeckt. Ungefähr da, wo der Pilzstiel in den Hut übergeht, erscheint zu dieser Zeit (oft aber auch ziemlich früher) ein Plasmawisch, ganz ähnlich der »Spermastrahlung«, nur daß in dem feinkörnigen Plasmahof kein Spermatozoon oder kein Vorkern zu entdecken ist. Die Herkunft dieser Plasmainsel ist mir unklar. Von überzähligen Spermatozoen oder apyrenen Spermatozoen kann sie kaum stammen, denn Henking fand sie auch im unbefruchteten Ei von *Bombyx mori*. Über ihre Bedeutung weiß ich ebenso wenig etwas anzugeben. Handelt es sich vielleicht hier um Plasma der Urkeimzelle, das schon früh auftritt, ähnlich wie bei den Cecidomyiden (Kahle [09])?

Ungefähr dann (die Vorgänge vollziehen sich innerhalb einer großen Variationsbreite), wenn die Vorkerne vollständig oxychromatisch geworden sind (Fig. 52), trifft der weibliche Pronucleus auf den männlichen. Nun beginnen die Prophasen der Kopulation. In den Vorkernen erscheint ein feines Reticulum, auf dem zerstreut viele kleine Chromatinkörnchen liegen (Fig. 53), die immer mehr und mehr zusammenfließen und allmählich sich zu größeren Strängen vereinigen (Fig. 54). Wie schon früher einmal betont wurde, verlaufen in den Richtungskörpern ungefähr zur selben Zeit genau dieselben Veränderungen, wie in den Vorkernen. Das mögen die Fig. 54 und 58 zeigen, die aus demselben Ei stammen. Die Richtungskörper (Fig. 58) kommen infolge ihrer Größenzunahme nebeneinander zu liegen und füllen fast den ganzen Bezirk des Richtungsplasmas aus.

Langsam tauchen in den Vorkernen die Chromosomen auf (Fig. 55); erst sind sie noch lang und unregelmäßig geformt, bald aber verkürzen sie sich, und wir erhalten die kurz stäbchenförmigen, mit deutlicher Querkerbe versehenen Chromosomenformen, die uns von den Reifeteilungen her bekannt sind (Fig. 56). Der Kerninhalt ist inzwischen feinkörnig geworden, und die Größe der Kerne hat in den Prophasen noch wenig zugenommen. Das ist das Stadium, auf das die Kopulation folgen muß, die mir leider fehlt. Wie verläuft die erste Furchungsteilung? Folgt die vielleicht der Querkerbe? Keineswegs! Es ist eine Längsteilung, denn die alten Chromosomenformen treten wieder in der Prophase der zweiten Furchungsteilung auf, und wieder stellen sie sich mit der Längsachse in die Äquatorialebene ein (Fig. 57). Wie lange diese Querkerbe sichtbar bleibt, weiß ich nicht, sicher ist, daß sie bei *dispar* und *monacha* zur Zeit

der Blastodermbildung verschwunden ist, bei *fuliginosa* dagegen ist sie auf diesem Stadium noch vorhanden.

Für die Reduktionsprobleme wollen wir von den zuletzt geschilderten Vorgängen festhalten,

1. daß die Querkerbe in der Prophase der Kopulation wieder erscheint,

2. daß die erste, sowie alle späteren Furchungsteilungen Längsteilungen sind,

3. daß die Querkerbe im Laufe der embryonalen Entwicklung bald früher, bald später verschwindet.

Noch interessiert uns das Schicksal der Richtungskörper. Wenn die Vorkerne kopulieren, zeigt sich in den Richtungskörpern eine gleiche Tendenz, nur fehlt die Energie zu einer konsequenten Durchführung. Bald verschmelzen alle drei Richtungskörper, entweder vollständig oder nur teilweise (Fig. 61) und bilden dann meist monströse, verzerrte, oft mehrpolige Spindeln (Fig. 60), oder es entsteht ein sogenannter Richtungskopulationskern dadurch, daß der zweite Richtungskörper mit dem ersten und seinem Descendenten verschmilzt. In allen Fällen reicht die erlöschende Lebensenergie nur noch zu einer Teilung aus, dann verklumpt das Chromatin und wird vom Plasma resorbiert. Die geschilderten Verhältnisse werden lebhaft erinnert haben an die ganz analogen bei einigen Hymenopteren. Auch hier wird ein Richtungskopulationskern gebildet (Henking 92, *Lasius niger*; Petrunkewitsch 01, *Apis mellifica*; Doncaster 06, Blattwespen). Nach Petrunkewitsch (01) sollte er aber im Drohnenei nicht untergehen, sondern die männliche Keimdrüse liefern, während das Soma vom Eikern abzuleiten wäre, eine Angabe, die natürlich von größter theoretischer Bedeutung war. Sie konnte aber nicht bestätigt werden. Nachtsheim (13) wies nach, daß auch hier, übereinstimmend wie im ganzen Tierreich, die Richtungskörper zugrunde gehen.

3. Der zeitliche Verlauf der ersten Entwicklungsvorgänge im Ei.

Es kann für zukünftige Untersuchungen nützlich sein, wenn ich kurz einige Notizen gebe über den zeitlichen Verlauf der geschilderten Entwicklungsvorgänge. Sie beziehen sich auf *L. dispar*, treffen aber auch ziemlich genau zu für *L. monacha*. Für die übrigen Formen fehlen mir genaue Zeitangaben. Hervorheben will ich noch, daß gleich alte Eier oft etwas verschieden weit sich entwickelt haben, deshalb können die folgenden Zeitangaben nur Mittelwerte bedeuten.

Zeit nach der Eiablage in Stunden	Entwicklungsstadien	Entsprechende Abbildungen für den weiblichen Kern	Entsprechende Abbildungen für den männlichen Kern
etwa $1/4$	Prophase und Metaphase	Fig. 1, 16, 17	—
etwa $1/4$—$1/2$	Anaphase	» 18—32	Fig. 43
$1/2$—$3/4$	Übergang zur Interkinese	» 40	» 44
$3/4$—1	Interkinese	» 43	» 45
1—$1^1/4$	Prophase zur zweiten Reifeteilung	» 15	» 46
$1^1/4$—$2^1/2$	Metaphase der » »	» 34	» 46
etwa $2^1/2$—$2^3/4$	Anaphase und Telophase der zweiten Reifeteilung	» 35, 39	» 50
$2^3/4$—$3^1/2$	Vorkernbildung und Wanderung des weiblichen Vorkerns	Textfig. 3	» 50—55
$3^1/2$—4	Kopulation	—	—
4—$4^1/2$	erste Furchungsteilung	-	—

Die zeitlichen Angaben, die Henking für *P. brassicae* gibt ([92], S. 210), stimmen mit denjenigen für *dispar* nicht überein. Die Vorgänge bis zur Befruchtung vollziehen sich bei *Pieris* fast doppelt so rasch, wie bei *dispar.* Daß tatsächlich große Verschiedenheiten im Entwicklungstempo vorkommen, mag auch daraus hervorgehen, daß die Blastodermbildung bei *L. dispar* 39 Stunden nach der Eiablage beginnt, bei *L. monacha* 35 Stunden nach der Ablage; im 25 Stunden alten *fuliginosa*-Ei dagegen schon die Keimstreifenbildung im vollen Gange ist.

4. Die Entwicklung der unbefruchteten Eier.

Systematische Untersuchungen an unbefruchteten Eiern habe ich keine angestellt. Zufällig war unter meinem *fuliginosa*-Material ein Teil unbefruchtet. Davon stammen die Beobachtungen. Daß auch im unbefruchteten Ei die Metaphase der ersten Reifeteilung erreicht wird, wird nicht wundernehmen; denn sicher werden die Eier erst unmittelbar vor der Ablage befruchtet; zu dieser Zeit aber ist das Keimbläschen schon auf dem Prophasenstadium. Zur Weiterentwicklung scheint nun bei *fuliginosa* das Spermatozoon notwendig zu sein. Denn über die Metaphase hinaus kommt das unbefruchtete Ei nach meinen Beobachtungen nicht. Die Chromosomen beginnen zu zerbröckeln, zu zersplittern; bald liegt nur noch eine Staubwolke von Chromosomentrümmern vor. Jede weitere Entwicklung wird sistiert.

Ganz analoge Mitteilungen gibt Henking (92) über *Leucoma salicis.* Doch scheinen die Schmetterlinge in dieser Beziehung sich verschieden zu verhalten. Derselbe Forscher fand bei *Bombyx mori* vollständig normale Richtungskörperbildung. Die darauf folgenden Furchungsteilungen

zeigen bald pathologische Erscheinungen. Zu einer Larvenausbildung kommt es nicht. Schon früher gab Verson (90) an, daß die Entwicklung im unbefruchteten Ei von *Bombyx mori* nur bis zur serösen Membran vor sich geht. Platner (88) fand bei *L. dispar* ebenfalls normale Richtungskörperbildung. Er schreibt ferner: »Ich habe dieses Objekt gewählt, nachdem ich in diesem Frühjahr aus den Wintereiern von fünf unbefruchteten Weibchen zahlreiche Räupchen gezogen habe, die munter weiter gedeihen.« Nun habe ich aus Gründen, die mit den Geschlechtschromosomenfragen zusammenhängen, eine große Zahl (110) von sicher unbefruchteten Weibchen Eier legen lassen. Die Puppen bezog ich aus verschiedenen Gegenden Deutschlands, da möglicherweise gewisse *dispar*-Rassen zu parthenogenetischer Entwicklung neigen könnten. Eine vorläufige Visitation ergab, daß eine Entwicklung leider nicht stattfand. Doch wird es sich erst im Frühjahr 1914 zeigen, ob unter den vielen Eiern nicht doch einige wenige sich entwickelt haben, was ich jedoch nicht glaube.[1]) Die Angaben Platners bezweifle ich und verhalte mich ebenso skeptisch gegenüber den vielen Angaben, die in der Literatur über parthenogenetische Entwicklung bei Schmetterlingen existieren.

III. Die Geschlechtschromosomenfrage.

Wir kennen nun den Verlauf der Reifeteilungen im Ei der Schmetterlinge in allen Einzelheiten. Jetzt können wir der eingangs aufgestellten Frage »ist bei Lepidopteren cytologisch eine Digametie feststellbar?« nachgehen, indem wir die untersuchten Formen einzeln vornehmen und das Verhalten der Chromosomen in der Ovogenese und Spermatogenese prüfen. Zugleich soll das Reduktionsproblem weiter verfolgt werden. Meine ursprüngliche Absicht war, überall Chromosomencyklen auszuarbeiten, wie wir bis jetzt solche kennen von Phylloxeriden und Aphiden (Morgan, Stevens, Baehr), von Heteropteren (Morrill-Wilson) und von Nematoden (*Heterakis*: Boveri-Gulick, *Angiostomum*: Boveri-Schleip, *Ancyracanthus*: Mulsow). Das Material war jedoch derart widerspenstig, daß es mir nicht überall vollständig gelang, meine Absicht durchzuführen und ich mich schließlich damit zufrieden geben mußte, mein Ziel teilweise erreicht zu haben.

1. Literaturüberblick.

Da alle Versuche, die bis jetzt angestellt wurden, bei Lepidopteren Geschlechtschromosomen nachzuweisen, resultatlos verliefen, oder noch nicht abgeschlossen sind, mag es genügen, wenn ich nur ganz kurz darüber

[1]) Anmerkung bei der Korrektur: Es haben sich tatsächlich keine entwickelt.

referiere. Miss Stevens (06), die eifrige amerikanische Geschlechtschromosomenforscherin, hat zuerst Schmetterlinge auf Heterochromosomen untersucht. Sie fand bei *Cacoecia* und *Euvanessa* in beiden Spermatocytenteilungen 30 Chromosomenpaare. Eines davon zeichnet sich durch besondere Größe aus (genau wie in den Spermatocyten von *fuliginosa*, vgl. Textfig. 8, S. 223). Eine inäquale Teilung findet nicht statt. Nun glaubte Stevens das große Chromosomenpaar auffassen zu dürfen als Idiochromosomenpaar, vergleichbar den äqualen Idiochromosomen (x-y-Chromosomen), die Wilson (05) bei *Nezara* fand, und zwar deshalb, weil "in the growth stage there is a two-lobed body (or sometimes two separate spherical bodies) which seems to correspond in size to the larger pair of chromosome in the first spermatocyte«. Und ferner "In safranin-gentian preparations it stains, not like a plasmosome, but red like the heterochromosomes, while the spireme is violet. The staining reaction at least suggests that this equal pair of chromosome, which may be traced through the synizesis stage, synapsis stage, growth stages and prophases, into the first spermatocyte spindle and on to the second spermatocyte, is an equal pair of heterochromosom." Dazu muß nun gesagt werden, 1., daß wir keine Farbreaktion kennen, die für die Geschlechtschromosomen charakteristisch ist; der "two-lobed body" kann sehr wohl ein gewöhnlicher Nucleolus sein und 2., daß tatsächlich bei allen Schmetterlingen, die schon beschrieben sind, in den Spermatocyten ein Nucleolus vorhanden ist, der aber, wie Federley (13) zeigte, und wie auch ich später nachweisen werde, mit dem »Chromatinnucleolus« Montgomerys nichts zu tun hat. Und endlich 3., daß der Beweis, daß der two-lobed body wirklich übergeht in das große Chromosomenpaar der ersten Reifeteilung, weder erbracht ist, noch überhaupt ein Versuch dazu gemacht wurde. Die Stevenssche Vermutung, daß bei *Euvanessa* und *Cacoecia* ein gleiches Idiochromosomenpaar vorhanden sei, ist also nicht im geringsten begründet.

Miss Stevens' »Beweisführung« hat leider Schule gemacht. Man höre ein Zitat aus Gross (12), der zwar sonst sehr kritisch an die Geschlechtschromosomenliteratur herantritt, aber doch die Schmetterlinge als Formen ausgibt mit »Chromatinnucleolen«[1]), die gelegentlich, wie es seine Geschlechtschromosomenhypothese verlangt, zweiteilig sind. »Der Chromatinnucleolus (der Spermatocyten) ist meist scheinbar ganz ein-

[1]) Montgomerys Bezeichnung »Chromatinnucleolus« für die in der Wachstumsperiode kompakt bleibenden Geschlechtschromosomen ist recht unglücklich und kann zu allerlei Begriffsverwirrungen Anlaß geben. Nach dem Vorschlage Wilsons verwenden wir dafür die Bezeichnung »Chromosomennucleolus«.

heitlich; zuweilen läßt schon seine hantelförmige Gestalt auf Bivalenz schließen, ja bei *Cacoecia* und *Vanessa antiopa* kann er nach STEVENS (06) sogar in zwei separate Stücke zerfallen. Immer aber ergibt eine Zählung der Chromatinelemente in den Spermatocyten, daß er nicht ein einzelnes Chromosom, sondern ein Paar von solchen vertritt. Hier ist also die Verschmelzung eines Chromosomenpaares zur Bildung des Chromatinnucleolus wieder über jeden Zweifel erhaben.« Ich wage aber doch, etwas zu zweifeln. Wer hat denn diese Zählungen der Chromatinelemente ausgeführt und auf was für Stadien? Wohl sprechen fast alle Untersucher der Spermatogenese der Lepidopteren vom Vorhandensein eines Idiochromosomenpaares, das in der Wachstumsperiode kompakt bleibt und einen »Chromatinnucleolus« (MONTGOMERY) bildet: das gilt von den Arbeiten von STEVENS (06), DEDERER (07), COOK (10) und vielleicht auch von denen DONCASTERS (11, 12). Aber gerade die entscheidende und beweisende Chromosomenzählung fehlt, oder ist wenig überzeugend, nämlich die Zählung der bivalenten Chromosomenschleifen der Wachstumsperiode oder der Prophasenchromosomen, so lange der »Chromatinnucleolus« noch als solcher erkenntlich ist. Einzig Miss DEDERER hat die Zählung bei *Philosamia cynthia* ausgeführt und stellt fest, daß ein Chromosomenpaar weniger vorliegt, als in den Äquatorialplatten, also der Nucleolus übergehen muß in ein bivalentes Äquatorialplattenchromosom. Leider aber hat DEDERER versäumt, für diese wichtige Feststellung überzeugendes Beweismaterial in ihren Abbildungen zu geben (vgl. ihre Fig. 22—25, S. 98; in Fig. 23 z. B. wird jedermann 13 Chromosomen finden, nicht 12 !). Da zudem eine genaue Feststellung der Chromosomenzahl in den Prophasen äußerst schwierig ist, hat man wohl das Recht, diesen einzigen Fall, auf den GROSS sich berufen kann, zu bezweifeln. In allen übrigen Arbeiten liegt kein Versuch eines Beweises vor. Oder durch was für Zählungen soll denn über jeden Zweifel erhaben festgestellt worden sein, daß der Nucleolus der Spermatocyten nicht ein einzelnes Chromosom, sondern ein Paar von solchen vertritt? — Ob DONCASTER den Nucleolus der Spermatocyten von *Pieris* und *Abraxas* als Chromosomennucleolus ansieht, ist mir nicht klar. Er schreibt: "the chromatinnucleolus is also similar to that of the oocyte at the corresponding stage": vom Ovocytennucleolus aber gibt er an, daß er in den in Rede stehenden Stadien übergeht in ein gleiches Idiochromosomenpaar. — Da DONCASTERS Untersuchung sich auch auf die Spermatogenese und Ovogenese der durch die Kreuzungsexperimente so berühmt gewordenen *Abraxas grossulariata* und die Varietät *lacticolor* sich erstreckt, müssen wir darauf etwas genauer eingehen. Die Resultate sind kurz folgende: "the *lacticolor* male does

not differ recognisably from the *grossulariata* male in its chromosome group, the spermatocyte number being 28 in each" (12, S. 195) und: "it may be concluded with confidence that the chromosome number in the *lacticolor* female is not different from that in the *grossulariata* female (12, S. 198); beim *grossulariata*-Weibchen ist sie 56, also gleich wie beim Männchen. Auch ergeben sich keine Beweise für die Anwesenheit eines Idiochromosomenpaares.

In unverständlichem Gegensatz dazu stehen die folgenden Feststellungen Doncasters: Die Eireifung beginnt damit, daß "the nuclei begin to enlarge and pass through a synizesis stage closely similar to that of *Pieris*, except that the nucleolus is less conspicuous and is sometimes difficult to find" (S. 196). Von jetzt an wachsen die Kerne stark, schließlich kommt ein Stadium, wo "the nucleus contains about 27 pairs of short, thick chromosomes, and an additional larger pair apparently derived from the chromatin-nucleolus" (S. 196). Ovocyten mit solchen Kernen ergeben nach Doncaster wahrscheinlich nutritive Zellen. Die eigentlichen Ovocyten sind größer und "contain a very large nucleolus and interlaced chromatin threads, which have not contracted into short loops. Their number is difficult to count, but appears to be the haploid number (27) rather than the diploid (54)" (Seite 197). Aber die haploide Chromosomenzahl ist doch 28, die diploide 56! Wie kommt Doncaster plötzlich dazu, entgegen seinen früheren Angaben, als diploide Chromosomenzahl 54 aufzustellen? Aus dem Wortlaut des vorletzten Zitates kann man die Antwort erraten. Übrigens gibt sie Doncaster etwas später selbst klar: "In the early stages of the meiotic phase two of these (Ovogonienchromosomen) give rise to a double chromatinnucleolus, and the remainder undergo synizesis" (S. 197). Woher weiß das Doncaster? wahrscheinlich daher, weil auf einem früheren Stadium in den nutritiven Zellen "about 27" Chromosomenpaare auftreten und in den wahren Ovocyten eher 27 als 54! Man merkt, es ist dasselbe Kartengebäude, zu dem Stevens den Grund gelegt hat. Damit keine Mißverständnisse entstehen: selbstverständlich will ich nicht sagen, daß die Ovocyten von *Abraxas* keinen Chromosomennucleolus (= Chromatinnucleolus, Montgomery) hätten, oder gar allgemein daran zweifeln, daß gewisse Chromosomen in der Wachstumsperiode kompakt bleiben können. Man braucht sich nur etwa die vortrefflichen und lückenlosen Abbildungen, die Wilson in seiner *Oncopeltus*-Arbeit (12) gibt, darauf hin anzusehen, so ist man überzeugt. Was ich betonen wollte, ist nur das, daß nicht jeder Nucleolus ein Chromosomennucleolus ist, und daß man immer die Pflicht hat, den Beweis dafür zu erbringen, wenn man einen Nucleolus als Chromosomen-

nucleolus ausgibt. Und weil dieser Beweis in vielen Geschlechtschromosomenarbeiten nicht erbracht ist, ist es Zeit, daß man darnach fordert.

Sollte nun die Behauptung Doncasters, daß die Ovocyten einen Chromosomennucleolus besitzen, stimmen, so dürfte nach unsern heutigen Kenntnissen gefolgert werden, daß *Abraxas* im weiblichen Geschlecht entweder Heterochromosomen, oder Idiochromosomen, oder Mikrochromosomen, oder "überzählige Chromosomen" (Wilson 09, Stevens 08) besitzt. Andre Chromosomen bleiben während der Wachstumsperiode nicht kompakt. Ein Heterochromosom aber kann nicht vorliegen, da die Chromosomenzahl in beiden Geschlechtern dieselbe ist; Idiochromosomen kommen nach Doncasters eigner Aussage nicht in Betracht, weil die Hälften des »Chromatinnucleolus« keine konstanten Größenunterschiede aufweisen; m-Chromosomen können es wegen der Größe nicht sein und »überzählige« wegen der konstanten Chromosomenzahl nicht! Was denn? Da Doncasters Mitteilungen über *Pieris* genau dieselben Unklarheiten und Widersprüche enthalten, gehe ich nicht darauf ein.

In einer neuesten Publikation über *Abraxas* teilt Doncaster (Juni 13) mit, daß "it appears probable that all the females of a unisexual family have 55 chromosomes instead of 56", und verspricht die Reifeteilungen der Eier solcher Formen zu untersuchen. Man wird mit Spannung dem Resultat entgegensehen.

In einer vorläufigen Mitteilung berichtet Miss Dederer (12) über Reifeteilungen im Ei von *Philosamia cynthia*, deren Spermatogenese sie früher (07) studiert hatte. In Ovogonien und Spermatogonien sind 26 Chromosomen vorhanden, in beiden Reifeteilungen im Ei 13. Bei der Fusion der Vorkerne sind, unmittelbar bevor die Nuclearmembran verschwindet, im männlichen und weiblichen Pronucleus 13 Chromosomen zu zählen. Ein sichtbarer Dimorphismus existiert also auch im weiblichen Geschlecht nicht. Zum Schluß erwähnt Dederer, daß bei *Ph. cynthia* nichts gegen die Annahme eines gleichen Idiochromosomenpaares im männlichen Geschlecht spreche, also der *Nezara*-Typus vorliege.

Außer den erwähnten neueren Arbeiten über Spermatogenese und Ovogenese bei Schmetterlingen existiert noch die von Grünberg (03), die von Munson (07) und die äußerst interessante und ergebnisreiche *Pygaera*-Arbeit von Federley (13). Alle drei berichten weder von Heterochromosomen noch Idiochromosomen.

Aus diesem kritischen Überblick auf die bis jetzt erschienene Literatur über mein Thema ergibt sich, daß für die Lepidopteren die Geschlechtschromosomenfrage vollständig ungelöst ist. Bevor ich meine eigenen Befunde mitteile, sei die Bemerkung gemacht, daß es nicht meine Absicht war, Jagd nach Geschlechtschromosomen bei Schmetterlingen zu veranstalten. Ich nahm mir von vornherein vor, einige wenige Formen (die Rücksicht, die mich bei ihrer Auswahl leitete, habe ich schon betont) genau zu untersuchen, unbekümmert um das Endresultat. Leser, die von mir den Nachweis von möglichst vielen Geschlechtschromosomen erwarten, werden deshalb eine Täuschung erleben.

2. Phragmatobia fuliginosa.

a) Reifeteilungen im Ei.

Die Äquatorialplatte der ersten Reifeteilung zeigt bei *fuliginosa* 28 Chromosomen. Gut getroffene Platten sind schematisch klar; über die Chromosomenzahl kann man sich kaum täuschen, denn weit und breit liegen keine Dotterkugeln, die zu Irrtümern Veranlassung geben könnten, im Richtungsplasma (Fig. 2). Liegen dann und wann doch vereinzelte Dotterschollen in der Nähe der Spindel, so sind sie meist größer als die Chromosomen, zudem rund, in gut differenzierten und gut fixierten Präparaten größtenteils plasmatisch gefärbt, also immer leicht erkennbar. Betrachten wir die Chromosomenplatte, so springt sofort in die Augen ein unverhältnismäßig großes, lang stäbchenförmiges Chromosom. In Textfig. 5*a*, S. 202, liegt es in der Mitte der Platte, ist wohl ungefähr viermal so groß wie eines der gewöhnlichen Chromosomen und zeigt meist eine schwache Segmentierung, bald mehr, bald weniger deutlich. Es scheint aus vier Teilstücken zu bestehen. Die Lage dieses großen Chromosoms, dem wir in Zukunft besondere Aufmerksamkeit schenken wollen, wechselt; mit Vorliebe liegt es peripher. Die Größenunterschiede zwischen den übrigen Chromosomen, die kurz stäbchenförmig oder bisquitförmig sind, sind in der Metaphase nicht sehr prägnant; erst nach der Elimination fallen sie in die Augen.

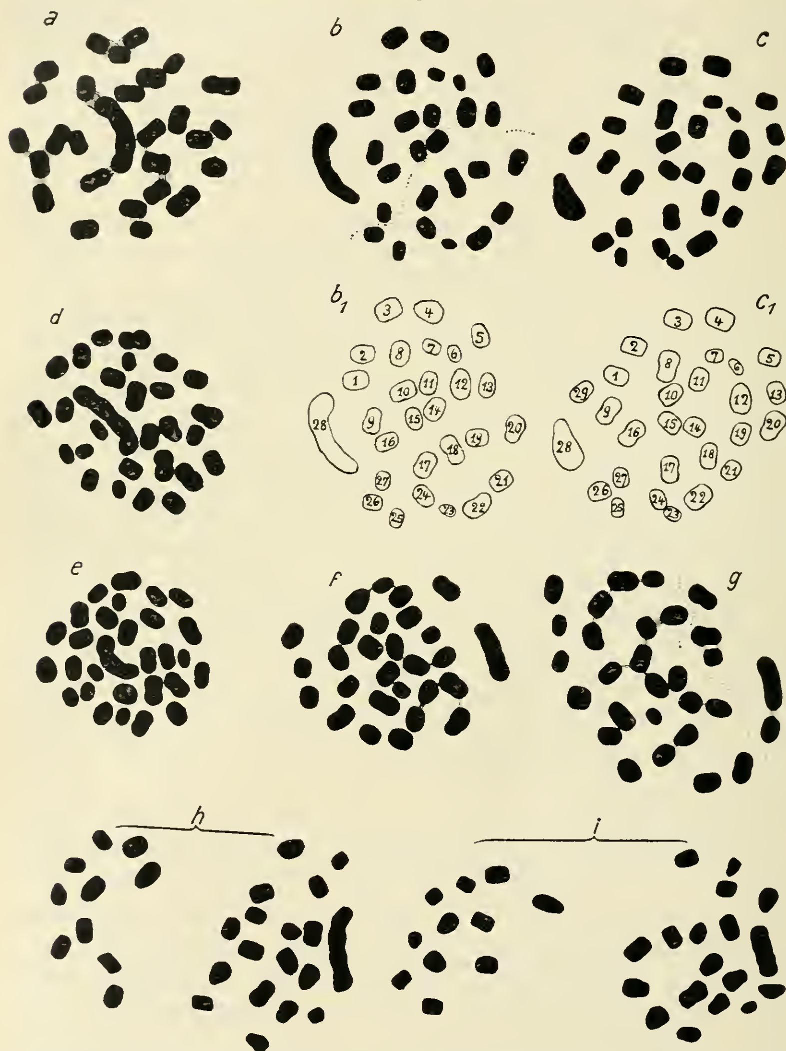
Nun interessiert uns das Resultat der ersten Reifeteilung. Textfig. 5*b*, *c* gibt zwei zusammengehörige Tochterplatten kurz nach der vollendeten Elimination wieder. Die eine Platte (*b*) ist aus zwei Schnitten kombiniert. Ich gebe hier, wie in allen analogen Fällen, die Grenzen der Schnitthälften durch eine punktierte Linie an. Die Chromosomen sind, mit einer Ausnahme, in allen meinen Chromosomenbildern in der normalen Lage gezeichnet. Vergleicht man nun die beiden Tochter-

platten, so fällt auf den ersten Blick auf, daß die beiden großen Chromosomen verschieden sind. Dasjenige der inneren Platte *b*, die später den weiblichen Pronucleus liefert, hat ungefähr die Form und Größe, wie wir sie von diesem auffälligen Chromosom von der Äquatorialplatte *a* her kennen. Der Partner aber in der Platte *c*, die nach außen liegt, also den ersten Richtungskörper liefern wird, ist sichtlich kürzer und plumper. Aber weiter: zählen wir die Chromosomen der Platte *b*, so finden wir, wie wir erwarten, 28 Chromosomen. Zu unsrer Verblüffung dagegen weist die andre Polplatte 29 Chromosomen auf. Wie kommt das? Ursprünglich waren doch nur 28 vorhanden! Es ist möglich herauszufinden, wo das überzählige Chromosom 29 liegt, denn in Form, Größe und Lage gleichen sich die Chromosomen der beiden Tochterplatten so genau, daß es nicht schwer fällt, die homologen Chromosomenpaare herauszufinden. Das gelingt um so leichter, als jetzt nach der Elimination viel deutlicher als in der Äquatorialplatte Größenverschiedenheiten sich zeigen. So werden die kleinen Chromosomen 6, 7 der Platte *b* (b_1) leicht in der Platte *c* (c_1) auffindbar sein. Dasselbe gilt von den ebenfalls kleinen Chromosomen 23—27. Weniger leicht gelingt die Identifizierung bei den übrigen Chromosomen, da alle mehr oder minder gleich groß sind. Doch geben die gegenseitigen Lagenbeziehungen genug Anhaltspunkte in die Hand, alle 28 Chromosomen der Platte *b* in der Tochterplatte *c* wiederzufinden. Dabei bleibt hier als überzähliges Chromosom dasjenige, das über dem großen, plumpen Chromosom liegt. Damit ist die Herkunft des Chromosoms 29 klar; es ist von 28 abgesprengt worden, und zwar muß das in der frühesten Anaphase geschehen, da mir keine Tochterplatte zu Gesicht gekommen ist, wo die Chromosomen 28 gleich groß waren. Zum Glück ist die entscheidende Tochterplatte, die 29 Chromosomen enthält, nicht zerschnitten, liegt mitten in der Dicke des Schnittes und ist schematisch klar.

Durchmustern wir vorerst alle Anaphasenbilder der Textfig. 5 darauf hin, ob sie die mitgeteilten Beobachtungen bestätigen. Besonders glücklich getroffen sind die Tochterplatten *d* und *e*. Jede liegt in einem besonderen Schnitt und zwischen ihnen, wieder auf einem besonderen Schnitt, ist die Eliminationsplatte, die ungefähr dasselbe Bild aufweist, wie eine Tochterplatte. In der Tat zeigt es sich auch hier auf den ersten Blick, daß die beiden Chromosomen 28 nicht gleich groß sind. Das in der äußeren Tochterplatte *e* ist bedeutend kürzer, als der Partner in der inneren Platte *d*. Wieder besitzt diese, analog wie im ersten Beispiel, 28 Chromosomen, die andre 29. Die zusammengehörigen Chromosomenpaare sind, weil während der vorrückenden Anaphase keine Verlagerung

stattfand, leicht identifizierbar; so leicht, daß es überflüssig gewesen wäre, sie zu numerieren, wie in b_1 und c_1. Suchen wir das Chromosom 29 auf. Links von der Mitte der großen Chromosomen 28 liegen in *d* und *e*

Textfig. 5.



Phragmatobia fuliginosa. *a*, Äquatorialplatte der ersten Reifeteilung im Ei. *bc*, Tochterplatten der ersten Reifeteilung. (*b* aus zwei Schnitten kombiniert, was immer durch eine punktierte Linie angegeben wird.) b_1 c_1, dieselben Tochterplatten, homologe Chromosomen mit gleichen Nummern versehen. *de*, *fg*, *hi* weitere Tochterplatten, immer gleich orientiert. (Bei *h* und *i* sind beide Platten zerschnitten.) Vergr. 4080.

in einer Reihe drei kleine Chromosomen, darüber ein paar von größeren Chromosomen und über diesen in der Platte *d* in der Fortsetzung vom Chromosom 28 ein einzelnes, in *e* dagegen zwei, wovon das innere das Chromosom 29 sein muß. Beginnt man von einem andern Punkt der Chromosomenplatte aus, sich zu orientieren, so kommt man immer wieder zum selben Resultat. Also auch hier wieder verrät das Chromosom 29 an seiner Lage seine Herkunft. Es ist von 28 abgesprengt.

Im Gegensatz zu den beiden erwähnten Beispielen besitzen in den beiden folgenden die inneren Platten, und somit später die weiblichen Pronuclei, 29 Chromosomen, die ersten Richtungskörper dagegen nur 28. Von den zusammengehörigen Platten *f* und *g* hat *f* 28 und *g*, die innere Platte, 29 Chromosomen. Hier klebt das Chromosom 29 noch schwach mit chromatischer Brücke an 28. Das Partnerchromosom in *f* ist in diesem Fall auffällig kurz, was aber sicher daher rührt, daß das Messer, das hart an ihm vorbeigeschnitten hat, ein Stück mitgerissen hat. Auch ist es im Präparat sichtlich etwas aus seiner normalen Lage herausgezogen nach rechts und von mir beim Zeichnen willkürlich mutmaßlich an seinen richtigen Platz zurückversetzt worden. Die beiden folgenden Tochterplatten *h* und *i* sind weniger übersichtlich, weil beide mitten entzwei geschnitten sind. Aber das, worauf es ankommt, ist klar zu erkennen: die eine Platte besitzt ein langes Chromosom 28, die andre, auch hier ist es die innere, hat ein kürzeres. Da die Lagenverhältnisse in beiden Platten in ihren rechten, unteren Ecken sicher ungestört sind, gelingt es auch hier leicht, das Chromosom 29 zu ermitteln. Es liegt unter dem Chromosom 28 der Platte *i*.

Es kann kein Zweifel mehr darüber existieren, daß *fuliginosa* im weiblichen Geschlecht Geschlechtschromosomen besitzt, denn es zeigte sich ein konstanter Unterschied zwischen den Tochterplatten der ersten Reifeteilung. Die eine erhält 28 Chromosomen, die andre 29, weil in ihr das große, für *fuliginosa* so charakteristische Chromosom zu Beginn der Anaphase in zwei Stücke zerfällt. Eine inäquale Teilung der übrigen Chromosomen findet nicht statt. Bezeichnen wir vorläufig das große Chromosom 28 als x-Chromosom, seine beiden Partner als y-Chromosomen. Der konstante Größenunterschied zwischen dem x-Chromosom und dem größeren y-Chromosom erleichtert den Nachweis der Geschlechtschromosomen bei *fuliginosa* wesentlich. Alle Anaphasenbilder, in denen die Längsachsen der *x*- und y-Chromosomen in der Schnittebene liegen, sind beweisend. Über ihre Größenverhältnisse soll die Textfig. 6 orientieren, Die zusammengehörigen x- und y-Chromosomen sind nach den vorrückenden Phasen der Reifeteilung geordnet; die in 1—15 sind

frühen bis späten Anaphasen entnommen. Das Chromosom 29, das kleinere y-Chromosom, ist nur dann eingezeichnet, wenn es als solches identifiziert werden konnte. Die Volumenschwankungen der Chromosomen zwischen Anaphase und Metaphase der zweiten Reifeteilung, auf die ich früher schon aufmerksam gemacht habe, kommen namentlich an

Textfig. 6.



Phragmatobia fuliginosa. Die Geschlechtschromosomen zusammengehöriger Tochterplatten einander gegenübergestellt. Das größte Chromosom ist das x-Chromosom; von den beiden y-Chromosomen ist das kleinere nur dann eingezeichnet, wenn es als solches identifiziert werden konnte. Die Partnerchromosomen sind nach den aufeinanderfolgenden Phasen der Reifeteilung angeordnet. 1—15 sind frühen bis späten Anaphasen entnommen, 16—25 Prophasen bis Metaphasen der zweiten Reifeteilung. Vergr. 4080.

den x- und y-Chromosomen zur Geltung und erschweren das Abschätzen der Größenverhältnisse wesentlich. So viel ich erkennen kann, sind beide y-Chromosomen zusammengenommen ungefähr so groß wie das x-Chromosom, wahrscheinlich eher etwas kleiner, als größer. Der Größenunterschied zwischen dem größeren y-Chromosom und dem x-Chromosom ist also beträchtlich und leicht konstatierbar. Das kleine y-Chromosom

gleicht einem Autosom von mittlerer Größe. Die Form der Geschlechtschromosomen ist immer lang stäbchenförmig, im Gegensatz zu dem Verhalten in den männlichen Geschlechtszellen, wie wir später sehen werden. Die schwache Segmentierung, die schon in den Äquatorialplatten bald mehr bald weniger deutlich sich zeigte, ist während der ganzen Reifeteilung erkennbar. Da wo sie am deutlichsten ist, zeigt das x-Chromosom vier

Textfig. 7.



Phragmatobia fuliginosa. *a b* zusammengehörige Äquatorialplatten der zweiten Reifeteilung, *a* äußere Platte, *b* innere. *c* Äquatorialplatte der zweiten Reifeteilung mit 29 Chromosomen. *d e* Anaphasen der zweiten Reifeteilung aus demselben Ei; *d* die des Richtungskörpers, *e* innere Spindel. Vergr. 4080.

Segmente (5, 8, 12, 16, 17, 20, 21, 23, 25), das größere y-Chromosom ist nur selten und undeutlich segmentiert.

Als äußerst sinnfälliges Kennzeichen der Geschlechtschromosomen während der Reifeteilungen gilt, daß sie gesondert an die Spindelpole wandern, entweder den Autosomen voran oder hintendrein. Das trifft vorzugsweise für die Reifeteilung zu, die die ungleichen x- und y-Chromosomen trennt, oder in der das univalente x ungeteilt einem Pol zustrebt. Doch ist das Merkmal durchaus nicht durchgängig. Gerade auch für *fuliginosa* trifft es nicht zu. Für die frühe Anaphase war ja das zum vornherein zu erwarten, wegen des Eliminationsprozesses. Aber auch

in der späten Anaphase der ersten Reifeteilung ebenso, das kann vorgreifend gesagt werden, in der Interkinese und zweiten Reifeteilung rücken alle Chromosomen miteinander vor. In sonderbarem Gegensatz dazu steht das Verhalten der Geschlechtschromosomen in den Reifeteilungen im monogameten Geschlecht, wie wir erfahren werden.

In der Interkinese findet bei *fuliginosa*, wie ich früher ausgeführt habe, eine paarweise Chromosomenbindung, eine sogenannte Chromosomenkoppelung statt, die vor der Metaphase der zweiten Reifeteilung wieder rückgängig gemacht wird. Es wird von Interesse sein zu erfahren, wie die y-Chromosomen sich verhalten, ob sie sich wieder voneinander trennen, wenn sie überhaupt gebunden waren, was ich annehme, aber nicht mit unzweideutigen Abbildungen beweisen kann. Die Textfig. 7 zeigt in *a* und *b* zwei zusammengehörige Äquatorialplatten der zweiten Reifeteilung, *a* ist die des ersten Richtungskörpers, *b* die, welche den weiblichen Pronucleus liefert. Hier sind in der Tat die y-Chromosomen getrennt zu erkennen, und die Zahl der Chromosomen ist 29. Werfen wir einen Blick auf die Lagenverhältnisse der Autosomen, so erkennen wir, daß trotz der weiten Wanderung der einen Spindelhälfte durch die Dotterregionen gegen das Eicentrum zu, und trotz der Chromosomenkoppelung auch jetzt noch in beiden Platten ziemlich übereinstimmende Lagenbeziehungen zwischen den einzelnen Chromosomen vorhanden sind. Das gibt uns die Mittel in die Hand. das kleine y-Chromosom aufzufinden. Es liegt höchstwahrscheinlich unter dem größeren y-Chromosom.

Genau gleich verhalten sich die y-Chromosomen, wenn sie in die Äquatorialplatte des ersten Richtungskörpers zu liegen kommen. Auch hier sind sie getrennt (Textfig. 7 *c*), und die Gesamtzahl der Chromosomen ist somit 29. Über die Größenunterschiede zwischen x- und y-Chromosomen in der Prophase und Metaphase der zweiten Reifeteilung kann man sich in der Textfig. 6 (16—25) orientieren. Am auffälligsten sind sie in der Metaphase (21—25). Hier will es oft scheinen, als ob die beiden y-Chromosomen zusammen kleiner wären, wie das x-Chromosom.

Die zweite Reifeteilung teilt die Geschlechtschromosomen, wie nicht anders zu erwarten ist, äqual. Sie ist eine Längsteilung genau wie bei den Autosomen. Textfig. 7 zeigt aus demselben Ei die Anaphase im Richtungskörper (*d*) und im weiblichen Pronucleus (*e*). Der Richtungskörper besitzt in diesem Fall die y-Chromosomen; das größere davon hat sich eben geteilt, während in der inneren Spindel die viel längeren Hälften des x-Chromosoms schon ein bedeutendes Stück auseinandergerückt sind. Aus dieser Teilung wird ein weiblicher Vorkern mit 28 Chromosomen resultieren. Ebenso oft aber, wie er 28 Chromosomen erhält,

bekommt er 29, und damit die Hälfte der Eier das x-Chromosom, die andre die y-Chromosomen.

Im Prinzip verhalten sich die Geschlechtschromosomen während der Reifeteilung also vollkommen übereinstimmend, gleichgültig ob das männliche oder das weibliche Geschlecht das digamete ist. Es wird unsre Aufgabe sein zu prüfen, ob dieser Satz auch zutrifft für das Verhalten während der Synapsis und Wachstumsperioden.

b) Das Verhalten der Chromosomen während der Ovogenese.

Das Verhalten der Geschlechtschromosomen von *fuliginosa* während der Ovogenese wird vermutlich dem der Spermatogenese der Formen, wo das männliche Geschlecht digamet ist, gleichen. Die Verhältnisse während der Reifeteilung legen diesen Schluß nahe. Man könnte versucht sein, vorauszusagen, was in der Ovogenese zu erwarten ist. Überblicken wir jedoch die Geschlechtschromosomenliteratur, so erkennen wir bald, daß es schwer hält, allgemein gültige Merkmale für das Verhalten der Geschlechtschromosomen im monogameten Geschlecht herauszuarbeiten. Außer dem einen Merkmal, daß eine Reifeteilung in bezug auf die Geschlechtschromosomen inaequal ist, gibt es wohl kein zweites mehr, das überall zutrifft. Denn bald können die Geschlechtschromosomen schon in den Spermatogonien von den Autosomen unterschieden werden, und ihr Sonderverhalten wird von da an durch die Wachstumsperiode immer prägnanter (»progressive Heteropycnose« Brunelli 10), bald sind sie erst etwa vom Synizesisstadium an durch ihr vorzeitiges Kompaktwerden erkennbar, oder sie erscheinen erst im Diplotänstadium, oder noch später, in der zweiten Phase der Wachstumsperiode, oder in den Prophasen kurz bevor auch die Autosomen kompakt werden, oder endlich, sie unterscheiden sich vor den Reifeteilungen überhaupt nicht von den Autosomen. Auch ist das Verhalten bei ein und derselben Form oft variabel. Welches das Verhalten der Geschlechtschromosomen von *fuliginosa* in der Ovogenese sei, ist also nicht vorauszusehen.

Die topographischen Verhältnisse im Ovar sind sehr übersichtlich. Die vier Eischläuche, die anfangs gerade sind, später sich in Windungen legen, zeigen schon bei bald erwachsenen Raupen aufeinanderfolgend die bekannten Bezirke: 1. die Keimzone, 2. die Synapsiszone, 3. die Differenzierungszone und 4. die Wachstumszone. Die Ovogonien der Keimzone besitzen eine wechselnde Zahl von Nucleolen, meist sind zwei bald aber auch nur einer, oft mehr als zwei vorhanden. Die wechselnde Zahl und die verschiedene Größe und Form der Nucleolen schließen zum vornherein den Gedanken aus, daß wir es hier mit kompakten Geschlechts-

chromosomen zu tun haben könnten. Sowohl in den Ruhestadien als während der Teilungen sind keine Unterschiede zwischen den Autosomen und den Geschlechtschromosomen erkennbar. Leider besitze ich keine einwandfreie Äquatorialplatte, die zu einem Zählen der Chromosomen hätte verwendet werden können.

Die Synapsiszone beginnt mit der Synizesis (McClung[1]), dem Knäuelstadium, dessen Spirem bei guter Fixierung den größten Teil des Kernraumes ausfüllt, aber doch immer die Tendenz zeigt, sich am einen Kernpol zu häufen (Fig. 62). Ob der Synizesis noch ein Leptotänstadium vorausgeht, konnte ich nicht entscheiden; ich halte es für sehr wahrscheinlich, lasse aber die Frage unentschieden. Für die jungen Ovocyten, die an Größe von den Ovogonien noch wenig verschieden sind, ist charakteristisch, daß sie immer nur einen großen Nucleolus besitzen, der durch alle die folgenden Stadien persistiert und durch sein färberisches Verhalten leicht in die Augen fällt. Während die Chromosomenschleifen das Eisenhämatoxylin nicht, oder nur wenig aufnehmen, färbt er sich tiefschwarz. Seine Form ist recht variabel; meist erhält man den Eindruck, als wäre er zusammengesetzt aus mehreren kleinen Chromatinnucleolen, die ein gemeinsames, achromatisches Plasmosom fast ganz erfüllen. Gelegentlich auch ist er deutlich zweiteilig. Über seine Herkunft kann ich nichts Bestimmtes aussagen. Unsre Aufmerksamkeit wird sich nun hauptsächlich darauf konzentrieren, zu erfahren, ob wir es hier mit einem Chromosomennucleolus zu tun haben, wie ein solcher für die Ovocyten von *Pieris* und *Abraxas* von Doncaster (12) unter dem Namen »Chromatinnucleolus« beschrieben wurde. Vorläufig müssen wir feststellen, daß die Diagnose, die Doncaster für seinen Nucleolus gibt, im großen und ganzen auch zutrifft für den Ovocytennucleolus von *fuliginosa*, nur daß hier die Zweiteiligkeit nie sehr ausgeprägt ist. Man kann die Vermutung nicht unterdrücken, daß in beiden Fällen dieselbe Art von Nucleolus vorliegt.

Was für Vorgänge vollziehen sich während der Synizesis? Es ist unmöglich, sich darüber eine Vorstellung zu bilden, denn der Knäuel zeigt einen undurchdringlichen Wirrwarr von Fäden, die Zahl derselben ist sehr groß und die Elemente äußerst klein. Ein kontinuierliches Spirem liegt sehr wahrscheinlich nicht vor, denn in der lichten Kernhälfte sind immer freie Fadenenden zu erkennen (Fig. 62).

---

[1]) Ich folge in der Terminologie fast durchwegs den Vorschlägen des amerikanischen Cytologen Wilson. In seiner *Oncopeltus*-Arbeit (Studies VIII, 12) findet man die Umschreibung und Abgrenzung der benutzten Begriffe.

Das nun folgende Stadium, das Pachytän, klärt darüber auf, was während der Synizesis sich vollzogen hat. Während der Knäuel sich lockert, die Fäden auseinanderweichen, fällt im Vergleich mit dem vorhergehenden Stadium zuerst die geringe Zahl der Chromosomenschleifen auf. Trotzdem ein genaues Zählen noch nicht möglich ist, kann man darüber keinen Augenblick zweifeln, daß die haploide Zahl vorhanden ist. Während der Synizesis muß also die Pseudoreduktion stattfinden und die Pachytänschleifen müssen bivalent sein. Ihre Zweiteiligkeit erkennt man auf diesem Stadium allerdings nur sehr schwer, und von allen Vorgängen, die sich abgespielt haben mögen, kann nur so viel ermittelt werden, daß vom Synizesisstadium an dickere Chromosomenschleifen auftreten, bis schließlich im vollendeten Pachytän alle Schleifen ungefähr doppelt so dick sind als die des Spirems. Übergänge in der Dicke der Schleifen zwischen beiden Extremen aber gibt es nicht. Die Pachytänschleifen tauchen gleichsam unvermittelt auf. Sie sind viel chromatischer als die der Synizesis. Eine Orientierung zu einem Bukett findet nicht statt.

Das Pachytän ist nur von kurzer Dauer. Ihm folgt bald das Diplotän. Der Kern hat inzwischen an Größe bedeutend zugenommen, ebenso der Nucleolus, der jetzt seine zusammengesetzte Natur viel deutlicher zeigt, als früher. Die Chromosomenschleifen liegen unmittelbar unter der Kernmembran, färben sich ganz plasmatisch und sind ungefähr von der Länge der S-förmigen Schleife der Fig. 63, die ein späteres Stadium darstellt. Sie bestehen aus paarweise hintereinandergereihten und verklebten Chromomeren (Vejdovský), die in eine feine Haarspitze auslaufen, und zwischen denen nur sehr deutlich ein schmaler Trennungsspalt wahrnehmbar ist. Es will scheinen, als ob er nicht kontinuierlich, sondern sehr oft unterbrochen wäre, so daß die Vorstellung erweckt wird, als lägen zwei spiralig umwundene Fäden vor, nicht zwei parallel aneinander gelagerte. Da die Verhältnisse jedoch sehr klein sind, wage ich vorläufig keine Entscheidung. Der Trennungsspalt bleibt durch das ganze Diplotän, das sehr lange dauert und einen großen Bezirk im Eischlauch in Anspruch nimmt, unverändert.

Zu Beginn der Differenzierungsperiode sehen wir nun die vorhandenen Ovocyten zwei verschiedene Entwicklungswege einschlagen. Weitaus die größere Zahl wird zu Nährzellen, die übrigen ergeben die eigentlichen Eizellen. Die Ursachen, die bestimmend sind für die verschiedene Entwicklung, sind mir vollständig unbekannt. Da keine Unterschiede zwischen den Ovocyten erkennbar sind, so ist die Vermutung nicht sehr wahrscheinlich, daß, ähnlich wie bei den Dytisciden (Giardina 01, Günthert 10), in den Ovogonien Differentialmitosen vorkommen. Es

wären spezielle Untersuchungen notwendig und wünschenswert, um diese interessanten Fragen zu lösen. Die ersten Unterschiede zwischen den wahren Ovocyten und den Nährzellen zeigen sich darin, daß in den letzteren die Diplotänschleifen sich verkürzen (Fig. 63), während sie in den Eizellen auf dem alten Stadium verharren. Mit der Verkürzung der Schleifen geht Hand in Hand eine stärkere Aufnahme von Eisenhämatoxylin. Zudem wird der alte Längsspalt deutlicher und allmählich sicher kontinuierlich. Hatten in der Synizesis homologe Chromosomen sich spiralig umwunden, was ich, wie schon betont, nicht mit Bestimmtheit angeben kann, so muß wohl dieser Prozeß beim Kompaktwerden wieder rückgängig gemacht werden. Oder man ist zur Annahme gezwungen, daß eine Neukonstituierung der Chromosomenschleifen stattfindet.

Schon im Diplotänstadium fiel auf, daß eine Doppelschleife bedeutend länger ist als die übrigen. Am deutlichsten zeigt sich das jetzt in den Nährzellen. Sie ist ungefähr drei- bis viermal länger als die gewöhnlichen und ist in Fig. 63 S-förmig. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß hier die Geschlechtschromosomen vorliegen. Wir dürfen annehmen, daß diese, genau wie die Autosomen, sich während der Synizesis gepaart und weiterhin dieselben Veränderungen durchgemacht haben, wie die Autosomen. Eine Verschiedenheit zwischen den beiden Hälften der bivalenten Geschlechtschromosomenschleife ist nicht zu erkennen. Neben den sich verkürzenden Chromosomenschleifen zeigen die Nährzellen den alten Nucleolus (Fig. 63), den wir lückenlos verfolgen konnten von der Synizesis an bis hierher. Die Frage nach der Natur des Nucleolus, von der wir ausgegangen sind, ist nun gelöst. Der Nucleolus der Nährzellen und Ovocyten von *fuliginosa* hat mit den Geschlechtschromosomen nichts zu tun. Erinnern wir uns der sonderbaren Behauptung Doncasters über den Nucleolus der Nährzellen von *Pieris* und *Abraxas*, so können wir noch nachsehen, ob er bei *fuliginosa* vielleicht ein Autosomenpaar liefert, trotzdem ja alle unsre Kenntnisse gegen eine solche Annahme sprechen. Und tatsächlich trifft sie auch keineswegs zu. Das geht schon aus seiner Größe und unregelmäßigen Gestalt hervor. Zudem ist er noch vorhanden, wenn die Autosomen und Geschlechtschromosomen schon alle kompakt sind und löst sich erst mit diesen endgültig auf, wenn die Funktion der Nährzelle beginnt. Der Nucleolus der Nährzellen im Ovar von *fuliginosa* ist also ein gewöhnlicher Chromatinnucleolus. Ob er eine Rolle spielt bei der Bildung der Chromosomen, ist mir unklar. In der Großzahl der Fälle färbt er sich noch lange intensiv schwarz, wenn schon alle Chromosomen kompakt sind. Seltener ist von ihm (im selben Präparat!) zu dieser Zeit nur das Plasmosom übrig. Dazwischen

existieren alle Übergänge. Auffällig ist, daß häufig viele Chromosomen am Nucleolus angeheftet sind (Fig. 63). Aus diesen Beobachtungen dürfte so viel sicher hervorgehen, daß, wenn er überhaupt beiträgt zur Bildung der Chromosomen, er dabei sich nicht aufzehrt. Am wahrscheinlichsten scheint mir, daß er dabei überhaupt keine Rolle spielt. Die Beobachtungen in den Spermatocyten stehen damit ebenfalls in Übereinstimmung. Zu demselben Resultat gelangt Gelei in einer überaus sorgfältigen Untersuchung über die Ovogenese von *Dendrocoelum* (13). Nach den Beobachtungen vom Kemnitz (13) an *Brachycoelium* liegen die Verhältnisse jedoch bei andern Tiergruppen wahrscheinlich verschieden. (Über die mannigfachen Widersprüche, die über diesen Punkt in der Literatur existieren, vgl. Jörgenson [10], Gelei [13], v. Kemnitz [13]).

Das Geschlechtschromosomenpaar nimmt in den Nährzellen nach dem Kompaktwerden die Form an, wie wir sie von den Eireifeteilungen her kennen. Es ist also lang stäbchenförmig und zeigt deutliche Segmentierung. Die Autosomen bekommen ebenfalls die von den Reifeteilungen her bekannte Tetradenform dadurch, daß die rätselhafte Querkerbe auftritt. Die weiteren Veränderungen in den Nährzellen sind für unsre Fragen belanglos.

Beim Übergang der Differenzierungszone in die Wachstumszone verändern sich die bivalenten Chromosomenschleifen der Ovocyten nicht. Ihr weiteres Schicksal habe ich nicht mehr verfolgt, da die Hauptfrage nach dem Verhalten der Geschlechtschromosomen während der synaptischen Phänomene entschieden ist. Möglich wäre nun allerdings noch, daß ihr Sonderverhalten erst in den Prophasen zu den Eireifeteilungen zum Durchbruch kommt. Da zudem die Kenntnis der Genese der Ditetrade wünschenswert wäre, will ich diese wesentlichen Lücken in meinen Beobachtungsreihen, wenn immer möglich, später ausfüllen.

Versuchen wir noch auf die Frage, wie die Reduktion herbeigeführt wurde, eine Antwort zu geben. Durch direkte Beobachtung ist sie nicht zu lösen. Der Synizesisknäuel ist undurchdringlich, und sobald er sich auflockert, ist die Reduktion vollzogen. Wenn wir uns vergegenwärtigen, daß das Spirem äußerst wahrscheinlich nicht kontinuierlich ist, ferner während des Knäuelstadiums unvermittelt merklich dickere Chromosomenschleifen auftreten, und keine Übergänge zwischen den dünneren und dickeren Schleifen vorhanden sind, die auf eine langsame Verdickung der dünnen Schleifen durch Kontraktion deuten würden, und von der Synizesis an bis zum Stadium der Tetradenbildung in den Nährzellen, und in den Ovocyten bis in die Prophasen zu der ersten Reifeteilung an den bivalenten Chromosomenschleifen auch nicht eine Spur von einer

Querkerbe zu erkennen ist, so ist es am nächsten liegend, auf Parallelkonjugation zu schließen. Gewiß trifft die Annahme, für deren Richtigkeit ein Indizienbeweis erbracht ist, die tatsächlichen Verhältnisse richtig, denn sie steht in bester Harmonie mit allen Beobachtungen während der Ovogenese und Spermatogenese. Hier glaube ich zudem noch einen Wahrscheinlichkeitsbeweis erbringen zu können, daß wirklich Parallelkonjugation vorliegt.

Erinnern wir uns in diesem Zusammenhang an die Beobachtungstatsachen, die wir früher während der Reifeteilungen im Ei zur Beantwortung der Reduktionsfragen herbeischaffen konnten. Dort stellten wir für alle untersuchten Schmetterlingsformen, also auch für *fuliginosa*, fest:

1. Beide Reifeteilungen sind Längsteilungen.
2. Die Teilungsebenen stehen senkrecht aufeinander.
3. Die Querkerbe der Chromosomen deutet keine Teilungsebene an.

Neu kommt zu diesen Beobachtungstatsachen hinzu:

4. Sehr wahrscheinlich findet Parallelkonjugation statt.

Wenn wir noch die Umwandlung der bivalenten Chromosomenschleifen der Ovocyten in die Ditretade kennen würden, könnten wir die Frage nach dem Vorkommen einer Reduktionsteilung beantworten. Nun kennen wir aber die Genese der Tetrade der Nährzellen, die genau so aussieht wie die Ditetrade. Mit großer Wahrscheinlichkeit darf wohl angenommen werden, daß die Tetradenbildung in den Ovocyten gleich verläuft. Ist das der Fall, so ist sicher, daß der eine Längsspalt der länglichen Ditetrade identisch ist mit dem Spalt der bivalenten Chromosomenschleifen im Diplotän. Die Reifeteilung, die diesem Spalt folgt, ist die Reduktionsteilung. Die andre Teilungsebene, die senkrecht steht zu der ersten und ebenfalls Längsteilung ist, muß die Chromosomen äqual teilen, sie ist Äquationsteilung.

Die erste Reifeteilung ist für die Geschlechtschromosomen sicher Reduktionsteilung, vorausgesetzt, daß während der Synapsis oder Prophasen keine Umgestaltung der Chromosomen durch Auswechslung ihrer Teile, der Iden, also keine Symmixis stattgefunden hat; die zweite ist die Äquationsteilung. Nun taucht die Frage auf: gilt das auch für die Autosomen? Man wird geneigt sein, auch für diese anzunehmen, daß die erste Reifeteilung reduziert. Aber beweisend kann der Analogieschluß keineswegs sein. Wir wissen heute zur Genüge, daß das Verhalten der Geschlechtschromosomen von dem der Autosomen gelegentlich außerordentlich unabhängig ist. Schon während der Vermehrungsperiode können sich Unterschiede zeigen, der Zeitpunkt der Synapsis kann für

die Autosomen und Geschlechtschromosomen verschieden sein, ebenso der Moment des Kompaktwerdens in den Prophasen, selbst auf gewissen Stadien das färberische Verhalten, ferner der Beginn der Reifeteilungen usw. Zu allem Überfluß sind jetzt schon Beobachtungen bekannt, die es wahrscheinlich machen, daß die Reduktion der Autosomen und Geschlechtschromosomen nicht in derselben Reifeteilung erfolgt (z. B. bei *Lygaeus*, Wilson [12], *Angiostomum*, Schleip [11], *Rhabditis aberrans*, Krüger [12]). Aus diesen Gründen soll die Frage, ob bei *fuliginosa* die erste oder zweite Reifeteilung für die Autosomen reduzierend ist, offen gelassen werden. Sie ist ja ohnehin nur von untergeordneter Bedeutung. Hauptsache ist, daß nachgewiesen werden konnte, daß überhaupt eine Reduktionsteilung vorkommt.

Ich mache nun weder mir noch sonst jemandem die Illusion, das Reduktionsproblem für die Ovogenese von *fuliginosa* gelöst zu haben. Die Resultate ruhen auf einer erschreckend großen Zahl von unbewiesenen Annahmen, und es kann heilsam sein, die wesentlichsten aufzuzählen. Die Annahme einer Reduktionsteilung (in der modernen Tragweite des Wortes, Weismann-Montgomery) stimmt

1. Wenn die Chromosomen der Ovogonien qualitativ verschieden sind.

2. Wenn die Ovogonien ein doppeltes Chromosomensortiment besitzen und homologe väterliche und mütterliche Chromosomen konjugieren.

3. Wenn die Leptotänschleifen der Synizesis identisch sind mit den Ovogonienchromosomen.

4. Wenn wirklich Parallelkonjugation stattfindet.

5. Wenn weder im Pachytän noch auf einem andern Stadium der Wachstumsperiode eine Fusion der Paarlinge stattfindet, also wenn keine Mixochromosomen gebildet werden.

6. Wenn die Tetradenbildung in Ovocyten gleich ist wie in den Nährzellen.

Ist es mir bei weitem nicht gelungen, das Reduktionsproblem zu lösen, so steht doch fest, daß die mitgeteilten Beobachtungen mit der Annahme einer Reduktionsteilung in bester Harmonie stehen. Nur ein Punkt bleibt ungelöst: Die Existenz der Querkerbe. Darauf will ich im allgemeinen Teil meiner Arbeit zurückkommen.

Die wesentlichsten Resultate dieses Kapitels sind kurz die folgenden:

1. Die Geschlechtschromosomen von *fuliginosa* unterscheiden sich in der Ovogenese bis zu den Prophasen der Reifeteilungen nicht von den Autosomen.

2. Der Nucleolus der Ovocyten ist ein Chromatinnucleolus und steht in keiner Beziehung zu den Geschlechtschromosomen.

3. Die Pseudoreduktion findet während der Synizesis sehr wahrscheinlich durch Parallelkonjugation statt.

4. Alle Beobachtungen stehen in Übereinstimmung mit der Annahme einer Reduktionsteilung.

c) **Das Verhalten der Chromosomen während der Spermatogenese.**

Wenn die Vorstellungen, die wir uns über die Geschlechtschromosomen gebildet haben, richtig sind und die Verhältnisse bei den Lepidopteren im Vergleich mit allen übrigen Vorkommnissen von Geschlechtschromosomen wirklich reziprok sind, wie es bis jetzt den Anschein hatte, so muß erwartet werden, daß an Stelle des ungleichen x y-Paares des weiblichen Geschlechts von *fuliginosa* das männliche zwei gleiche Geschlechtschromosomen besitzt. Ob die beiden y-Chromosomen in den Spermatocyten doppelt vorhanden sind oder das eine x-Chromosom, läßt sich nicht voraussagen. Fast allgemein gilt, daß überall, wo Idiochromosomen vorliegen, das größere von beiden im monogameten Geschlecht zweimal vorhanden ist. Da aber bei *fuliginosa* keine oder nur unwesentliche Größenunterschiede zwischen den x y-Chromosomen vorliegen, so ist die Entscheidung unsicher. Wir vermuteten, daß das Chromosom, das wir x-Chromosom nannten, das größere sei. Bestätigt der Verlauf der Spermatogenese alle unsre Erwartungen?

In den Spermatogonien ist, wie in den Ovogonien, weder in den Ruhestadien noch während der Teilungen ein Unterschied zwischen Autosomen und Geschlechtschromosomen zu erkennen. Wichtig sind für unsre Fragen die Chromosomenverhältnisse in den Äquatorialplatten. Wie wir erwartet haben, zeigen sie zwei große Geschlechtschromosomen, die an Größe gleich sind (Textfig. 8*e*, S. 223). Das Größenverhältnis der Geschlechtschromosomen gegenüber den Autosomen läßt darauf schließen, daß die x-Chromosomen vorliegen. Da die weiblichen Vorkerne, in welchen das große x-Chromosom sich vorfand, 28 Chromosomen besaßen, so muß der männliche Vorkern dieselben 28 Chromosomen mitbringen, wenn das männliche Geschlecht monogamet sein soll. Die diploide Chromosomenzahl müßte fürs Männchen also 56 sein. Die tatsächlichen Verhältnisse geben der Theorie recht. Die Spermatogonien besitzen 56 Chromosomen; sehr wahrscheinlich wenigstens, denn zur Gewißheit führen die Zählungen in den Spermatogonien nicht; die Verhältnisse sind bei *fuliginosa* ungünstig, die Chromosomen sehr klein und die Zahl relativ hoch. Mehr wie 56 habe ich in den beiden Hoden,

in welchen Spermatogonienteilungen sich vorfanden, nicht gezählt; mehrere Male dagegen 56; in Textfig. 8*e* sind es zufällig nur 55. Da diese Angaben nicht befriedigen können, habe ich nach andern, für das Chromosomenzählen günstigeren, somatischen Mitosen gesucht und solche gefunden, worüber ich im übernächsten Kapitel berichten will.

Die Wachstumsperioden beginnen mit einem Leptotänstadium, dessen Chromosomenschleifen den ganzen Kernraum ausfüllen. Zum Unterschied von den Spermatogonien, die meist zwei Nucleolen besitzen ist in den jungen Spermatocyten immer nur einer vorhanden. Seine Schicksale wollen wir wieder mit besonderem Interesse verfolgen. Über seine Entstehung konnte ich nichts ermitteln.

In denselben Cytocysten (Munson 07), in welchen sich Leptotänkerne vorfanden, treffen wir das nun folgende Stadium, die Synizesis (Fig. 64). Die Tendenz zur Zusammenballung an einen Kernpol zeigt sich in den Spermatocyten etwas stärker, als in den Ovocyten. Je besser die Präparate sind, um so weniger aber ist der Knäuel kontrahiert. Osmiumsäuregemische sind die besten Fixierungsmittel für diese empfindlichen Perioden. Carnoy liefert sehr schlechte Resultate. Wieder ragen aus dem Knäuel freie Schleifenenden in den lichten Kernraum hinein, und es darf wohl geschlossen werden, daß es nicht zur Bildung eines kontinuierlichen Spirems kommt. In die Vorgänge, die sich nun abspielen müssen, erhält man keinen Einblick. Die Verhältnisse sind noch ungünstiger als im Ovar. Daß aber hier wie dort die gleichen Veränderungen sich vollziehen, mag daraus hervorgehen, daß, wie in den Ovocyten, während der Synizesis die dünnen Chromosomenschleifen verschwinden und unvermittelt ungefähr doppelt so dicke auftauchen und am Ende des Knäuelstadiums lauter dicke vorhanden sind (Fig. 65).

Im Pachytänstadium weichen die stark chromatischen Schleifen auseinander und füllen langsam den ganzen Kernraum wieder gleichmäßig an. Jetzt gelingt es, manchmal schon früher (Fig. 65), ihre Zweiteiligkeit deutlich zu erkennen. Da zudem die Schleifenzahl zweifellos die haploide ist, dürfte erwiesen sein, daß auch im Hoden die Pseudoreduktion sich während der Synizesis vollzieht. Da die Vorgänge, die sie herbeiführen und die, welche auf sie folgen, genau dieselben sind, wie im Ovar, so schließe ich auch im Hoden auf Parallelkonjugation. Über den Bau der Doppelschleifen kann gar nichts ausgesagt werden; nicht einmal die Chromomere sind erkenntlich. Eine Orientierung der Schleifen zu einem Bukett findet nicht statt; alle Untersucher der Spermatogenese der Schmetterlinge sind darüber einig, so widersprechend die meisten übrigen Feststellungen sind. Da es den Anschein hat, als würde inner-

halb ganzer Tiergruppen in bezug auf das Bukett Übereinstimmung herrschen (den Hemipteren scheint es allgemein zu fehlen, bei Orthopteren tritt es überall in äußerst prägnanter Form auf), so darf es als wahrscheinlich gelten, daß allen Schmetterlingen das Bukettstadium fehlt. — Der Nucleolus ist seit der Synizesis wenig größer geworden, sonst sind an ihm keine Veränderungen vorgegangen.

Beim Übergang vom Pachytän ins Diplotänstadium findet ein Umschlag im färberischen Verhalten der Chromosomen statt. Die früher stark chromatischen Schleifen färben sich schließlich ganz plasmatisch. Ihre Zweiteiligkeit ist weniger deutlich erkennbar, als im Pachytän. Auch gelingt es nicht mit Sicherheit die Geschlechtschromosomenschleifen aufzufinden. Gegen Ende des Diplotäns beginnen die bivalenten Chromosomenschleifen sich aufzulösen. Ein Auseinanderweichen der beiden parallelen Fäden kann dabei nicht konstatiert werden. Sind alle verschwunden, so hat sich ein feines Reticulum gebildet; der Nucleolus ist inzwischen stark angewachsen. Damit beginnt der zweite Teil der Wachstumsperiode.

Wenn wir einen Moment zurückblicken auf die beschriebenen Stadien der Spermatogenese und sie vergleichen mit den entsprechenden der Ovogenese, so fällt auf, daß bis zum Ende des Diplotänstadiums vollständige Übereinstimmung herrscht in allen wichtigen Punkten: Dieselbe Reihenfolge der Stadien liegt vor, dasselbe Verhalten der Chromosomen und des Nucleolus. Diese völlige Parallele ist für die Untersuchung außerordentlich förderlich, und der stete Vergleich gibt den Feststellungen einen größeren Grad von Sicherheit. Von jetzt an aber scheiden sich die Entwicklungswege der männlichen und weiblichen Keimzellen.

Während des zweiten Teiles der Wachstumsperiode vollziehen sich in den Spermatocyten keinerlei Veränderungen, die für unsre Fragen von Interesse sind. Die Kerne sind am Ende derselben im Vergleich mit den Ausgangsstadien bedeutend angewachsen (Fig. 66). Der alte Nucleolus, den wir lückenlos verfolgen können vom Leptotän durch die Synizesis zum Pachytän und Diplotän, ist noch vorhanden und hat, wie der Kern, an Größe bedeutend zugenommen. Deutlich zeigt er auf diesem Stadium seine zusammengesetzte Natur; scheinbar erfüllen mehrere Nucleolen ein gemeinsames Plasmosom.

Wenn die Prophase zu den Reifeteilungen beginnt, so fängt das Chromatin des Nucleolus an zu schwinden; schließlich bleibt das Plasmosom allein übrig mit den letzten Resten des Chromatins (Fig. 67), bis auch diese noch, samt dem Plasmosom, vollständig aufgelöst werden (Fig. 68). Der Nucleolus der Spermatocyten hat also ebensowenig mit den Ge-

schlechtschromosomen etwas zu tun, wie der der Ovocyten; er ist ein gewöhnlicher Chromatinnucleolus. Über die gegenteiligen Angaben, die in der Geschlechtschromosomenliteratur der Schmetterlinge von Miss Stevens, Miss Dederer und Miss Cooc gemacht wurden, habe ich eingangs gesprochen. Ich lehne sie als nicht bewiesen ab. Wohin kommt die gewaltige Menge von Chromatin bei der Auflösung des Nucleolus? Die nächstliegende Vermutung ist die, daß es zum Aufbau der Prophasenchromosomen beiträgt. Nach Federley (13) trifft sie für *Pygaera* zu; ob sie auch für *fuliginosa* stimmt, bezweifle ich. Da ich diese heiklen Fragen nicht eingehend mit allen Hilfsmitteln der modernen Färbetechnik untersucht habe, will ich keine Entscheidung treffen. So viel ist jedoch sicher, daß kein direkter Zusammenhang zwischen Abnahme des Chromatins im Nucleolus und dem Chromatischerwerden des Reticulums erkannt werden kann. Bald ist der Nucleolus noch größtenteils vorhanden, wenn das Reticulum schon ordentlich chromatisch ist, bald ist er fast vollständig verschwunden, wenn es noch achromatisch ist (Fig. 67). Es will fast scheinen, als ob hier nur deshalb zwei Vorgänge in ursächlichen Zusammenhang gebracht werden, weil sie zufällig zur selben Zeit sich abspielen. Oder aber, die »Bezeichnung ‚Nucleolus‘ stellt einen Sammelnamen dar für die heterogensten, physiologisch völlig verschiedenartigen Dinge« (v. Kemnitz 13).

Um diese Zeit also, wo der Nucleolus verschwindet, erscheinen auf dem Reticulum kleine Chromatinklümpchen, Chromiolen (Vejdovský); sie sammeln sich in Gruppen, und allmählich werden die Bildungsterritorien der Prophasenchromosomen kenntlich (Fig. 68). Das Erscheinen derselben habe ich mit großer Aufmerksamkeit verfolgt, da Federley (13) für *Pygaera* in diese Perioden die wichtigen Vorgänge der Pseudoreduktion verlegt. Für *fuliginosa* kann mit Sicherheit festgestellt werden, daß, sobald die Umrisse der auftauchenden Chromosomen genügend scharf sind, jede Zählung derselben ungefähr die haploide Zahl (28) ergibt, nie auch nur annähernd die diploide. Dasselbe stellten wir für die Nährzellen fest. Auch dort kann während des Kompaktwerdens der Schleifen die haploide Chromosomenzahl ermittelt werden. Die Elemente, die in den Spermatocyten vorliegen, sind also sicher bivalent und sicher identisch mit den bivalenten Chromosomenschleifen, die am Ende des Diplotäns in den Ruhekern der Wachstumsperiode eingingen.

Verfolgen wir zuerst die Geschicke der uns am meisten interessierenden Geschlechtschromosomen. Sie tauchen mit den Autosomen aus dem Reticulum auf. Ein Unterschied im Zeitpunkt des Kompaktwerdens liegt also nicht vor. Sie erscheinen meist in Form eines großen Ringes,

der während der nun vor sich gehenden Chromatinaufnahme und während des Kompaktwerdens unregelmäßige, knotige Verdickungen aufweist (Fig. 70), deren Zahl absolut keine Konstanz zeigt, wie aus der Textfig. 8 (1—6 und 9—10) S. 223 hervorgehen mag. Die Ringe sind in mehreren, etwa aufeinanderfolgenden Stadien des Kompaktwerdens gezeichnet. Diese Unregelmäßigkeiten machen es uns unmöglich, über den Bau des Ringes ins Klare zu kommen. Nun kommen im Verhalten der Geschlechtschromosomen während der Prophasen ziemlich häufig Varianten vor, die uns den Weg zum Verständnis der Ringe weisen. Schon in Fig. 70 wird aufgefallen sein, daß der Ring an einer Stelle recht lose geschlossen ist, oft aber treffen wir ihn überhaupt offen (Textfig. 8[8], S. 223), oder es liegt gar kein Ring vor, sondern zwei, bis in die Metaphase der ersten Reifeteilung getrennte, große Chromatinstäbchen (Textfig. 8[7], S. 223), oder endlich, wir sehen zwei lange Chromatinfäden mit ihren Enden sich berühren (Fig. 69, 5). In diesen beiden Chromatinfäden haben wir zweifellos die beiden x-Chromosomen vor uns, die parallel konjugiert haben, mit ihren Enden schwach aneinander kleben und in der Mitte etwas auseinandergewichen sind, oder die eben im Begriff sind, parallel zu konjugieren.

Andre Auffassungen vertragen sich nicht mit den vorliegenden Tatsachen. Nehmen wir an, daß die Geschlechtschromosomen auf einem früheren Stadium end-to-end konjugiert, und hierauf sich längsgeteilt haben, so dürfen wir erwarten, daß später an der Verklebungsstelle eine Querkerbe oder ein Querspalt sich zeigt. Davon ist aber an den Geschlechtschromosomen nie etwas zu entdecken.

Noch eine andere Vermutung könnte auftauchen. Das x-Chromosomenpaar in den Spermatocyten ist auffällig kurz, und zwar sowohl in der Prophase, als während der Reifeteilungen höchstens zweimal so lang wie ein Autosom. In der Ovogenese stellten wir fest, daß das x-Chromosom ungefähr viermal so lang ist, wie ein Autosom. Dasselbe gilt für die Spermatogonien. Wäre nun der Ring so entstanden, daß die Geschlechtschromosomendoppelschleife sich umbiegt und die freien Enden verkleben und hierauf die Kontraktion stattfindet auf die Art, wie es die Textfig. 8 an den Ringen 4—5 und 9—10 zeigt, so wäre die Verkürzung der Geschlechtschromosomen in den Spermatocyten erklärt. Die Tatsachen sprechen aber entschieden gegen eine solche Annahme. Es kann an den Ringen der Prophase nie eine Spur davon entdeckt werden, daß sie Doppelringe wären. Ferner hätten wir zu erwarten, daß aus der Vereinigung eines weiblichen Vorkernes mit 28 Chromosomen mit einem männlichen Vorkern ein Embryo resultieren sollte, der zweierlei

x-Chromosomen besitzt, einmal das lange vom weiblichen Vorkern und vom männlichen ein viel kürzeres, dickeres. Solche Embryonen gibt es nicht, wie ich im übernächsten Kapitel zeigen werde. Die kurzen x-Chromosomen sind also einzig für die Spermatocyten charakteristisch, ohne daß ein Grund angegeben werden könnte für dieses Sonderverhalten. — Auch das Verhalten der Autosomen spricht, wie ich gleich ausführen will, dagegen, daß der Geschlechtschromosomenring entsteht durch Umbiegung der Doppelschleife.

Es bleibt nur die eine Möglichkeit: Die Ringe sind entstanden durch Parallelkonjugation; hierauf weichen die Paarlinge in der Mitte auseinander, oder aber, die Ringe sind Anfangsstadien der Parallelkonjugation, diese vollzieht sich vor unsern Augen in den Prophasen und beginnt damit, daß die Enden der Paarlinge sich nähern und verkleben.

Darnach hätten wir noch die Frage zu entscheiden, wann die Parallelkonjugation der Geschlechtschromosomen stattfindet. Daß sie für die Autosomen während der Synizesis sich vollzieht, ist sicher, denn die Zahl der Diplotänschleifen kann unmöglich die diploide sein. Da nun auch die Autosomen in der Prophase gelegentlich in Ringform erscheinen, so macht diese Tatsache es wahrscheinlich, daß auch die Geschlechtschromosomen während der Synizesis konjugieren; was weiter dadurch bestätigt wird, daß es weder im Pachytän noch im Diplotän gelingt, in den Spermatocyten univalente Chromosomenschleifen zu entdecken. Haben nun die x-Chromosomen in der Synizesis konjugiert, so müssen sie, wahrscheinlich beim Übergang vom Diplotän in den Ruhekern der Wachstumsperiode wieder mehr oder minder unabhängig werden voneinander. Sie weichen entweder nur in ihrer Mitte auseinander, oder trennen sich vollständig und entwickeln sich gesondert, oft bis gegen die Metaphase der Reifeteilung hin, um erst hier sich wieder zu vereinigen, während die Autosomenringe der Prophase ausnahmslos geschlossen sind (bei *dispar* fand sich dagegen in einem Fall ein offener), die Bindung zwischen diesen Paarlingen also eine solidere ist. Hierin haben wir den ersten Hinweis auf die besondere Natur der x-Chromosomen. Ihre Synapsis ist keine so innige, wie die der Autosomen.

Noch interessiert uns die Ausbildung der x-Chromosomentetrade und ihre Einstellung in die Spindel der ersten Spermatocytenteilung. Wenn der Geschlechtschromosomenring sich so weit kontrahiert hat, daß sein Lumen fast verschwunden ist, so bricht er an zwei gegenüberliegenden Stellen durch und die beiden x-Chromosomen liegen wieder getrennt vor (Textfig. 8^{9-10}, S. 223). Waren sie schon von der frühesten Prophase an im Ring nur lose vereinigt, wie in Fig. 69 (5), so kann ihr Kompakt-

werden gesondert Schritt für Schritt verfolgt werden, und der alte Trennungsspalt bleibt immer kenntlich. Da keine weitere Andeutung einer Teilungsebene während der Prophase auftritt, so kommt es nicht zur Bildung einer Tetradenform. Die Geschlechtschromosomen, wie übrigens auch die Autosomen, zeigen Dyadenform (Textfig. 8 *p*, S. 223). Liegen die beiden x-Chromosomen getrennt vor, so zeigen sich an ihnen in Übereinstimmung mit dem eben Gesagten keinerlei Kerben, die etwa eine Teilungsebene andeuten würden (Textfig. 8 *q*). Waren sie nur an einem Ende verklebt, so bleibt dieser Zustand oft bis zur Einstellung in die Reifespindel (Textfig. 8 *r*).

Die Verkürzung der Längsachsen der x-Chromosomen geht sehr weit, sie schießt sozusagen übers Ziel hinaus, so daß die Längsachse der Diploidschleifen nicht zur Längsachse der Dyade wird. In Textfig. 8 *p* ist die Geschlechtschromosomendyade etwa maximal kontrahiert. Die alte Längsachse, der Trennungsspalt zwischen den beiden x-Chromosomen, ist durch die Kerben angedeutet, steht also senkrecht zur Längsachse der Dyade. Eine Verwechslung kann deshalb nicht vorliegen, weil nie zweierlei Kerben vorhanden sind. Die Dyade stellt sich, wie nicht anders zu erwarten ist, so in die erste Reifungsspindel ein, daß ihre Längsachse zusammenfällt mit der Spindelachse (Textfig. 8 *f*). In *f*, *p* und *r* haben wir also die Seitenansicht der Dyade, in *a*, *b* und *s* die Polansichten, in *q* liegt die untere Dyadenhälfte in Pol-, die obere in Seitenansicht vor. Wie die erste Reifungsteilung verlaufen wird, ist klar. Sie wird für die Geschlechtschromosomen Reduktionsteilung sein. Erfreulicherweise ist diese Feststellung in bester Übereinstimmung mit den Beobachtungen während der Eireifung. Auch hier ist die erste Reifeteilung für die Geschlechtschromosomen die Reduktionsteilung.

Kurz sei noch das Verhalten der Autosomen in der Prophase skizziert. Sie sind lang stäbchenförmig, gerade (Fig. 69, 8), oder geschlängelt (Fig. 69, 1), sehr häufig V-förmig (2, 3, 6, 10), selten ringförmig (4). Ich glaube diese konstant auftretenden Formen der Prophasenchromosomen darauf zurückführen zu dürfen, daß im Ruhekern des zweiten Teiles der Wachstumsperiode die bald gestreckten, bald gebogenen Diplotänschleifen nicht vollständig aufgelöst werden, und daß bei ihrer Neubildung in den Prophasen sie in ihrer alten Lage und Form wiederkehren, nur haben sich die bivalenten Schleifen inzwischen bedeutend verkürzt. In Übereinstimmung mit dieser Annahme steht die Angabe Cooks, daß an Ausstrichpräparaten erkannt werden kann, daß die Chromosomendoppelschleifen nicht vollständig untergehen im Ruhekern der Wachstumsperiode, sondern ihre Individualität beibehalten.

Die Prophasenchromosomen verraten ihre Bivalenz durch ihre Form meist nicht. Doch sind die Fälle nicht allzuselten, wo deutlich erkannt werden kann, daß zwei parallel gelagerte Fäden vorliegen (Fig. 69, 8), die durch einen weiten Längsspalt getrennt sind. Dieser verschwindet dann bei der Chromatinaufnahme und der darauf folgenden Kontraktion. Da die gespaltenen Prophasenchromosomen in ihrer Mitte bald mehr, bald weniger weit auseinanderklaffen, sind alle wünschbaren Übergänge vorhanden zu der Autosomenringform (Fig. 69, 4), die zweifellos aus zwei in ihren Enden verklebten ursprünglich parallel gelagerten Chromosomen besteht, wie das die Geschlechtschromosomenringe oft so schön zeigen. Schon das nur gelegentliche Auftreten der Autosomenringe deutet darauf hin, daß zwischen ihnen und den übrigen Prophasenformen unmöglich ein prinzipieller Unterschied bestehen kann.

Kurz nach dem Auftauchen aus dem Reticulum, sobald die Chromatinaufnahme beginnt, strecken sich die gebogenen oder V-förmigen Prophasenchromosomen. Sie werden dabei immer chromatischer. Der Prozeß der Chromatinaufnahme beginnt meist an den Chromosomenenden (Fig. 69, 2, 3) und setzt sich von da gegen die Mitte zu fort. Hier besteht anfangs eine achromatische Brücke (Fig. 69, 7, 9; Fig. 70), die verschwindet, wenn das Kompaktwerden der Chromosomen weiter fortgeschritten ist. Doch bleibt sie anfangs noch durch das Vorhandensein einer Querkerbe angedeutet (Textfig. 8 *p*). Vom alten Längsspalt ist auf diesen Stadien nie mehr etwas zu sehen. Es kommt also auch bei den Autosomen, wie bei den Geschlechtschromosomen, nicht zur Ausbildung einer Tetradenform, auch sie weisen eine typische Dyadenform auf. Die Querkerbe der Autosomendyade ist aber nicht identisch mit derjenigen der Geschlechtschromosomendyade. Hier ist der angedeutete Querspalt zurückzuführen auf den alten Längsspalt, er trennt die beiden x-Chromosomen, die sich so sehr verkürzt haben, daß die ursprüngliche Längsachse zur Querachse wird. Bei der Autosomendyade dagegen ist der angedeutete Querspalt ein echter Querspalt, und die Teilung, die ihm folgen würde, würde die Autosomen quer halbieren. Sollte wirklich eine Reifeteilung so verlaufen, so bestände ein prinzipieller Gegensatz zwischen Spermatogenese und Ovogenese. Denn hier hatten wir konstatiert, daß beide Teilungen Längsteilungen sind. Oder sollte vielleicht auch die Autosomenlängsachse sich so extrem verkürzen wie die der x-Chromosomen? Und ist vielleicht die jetzt noch vorhandene Querkerbe nur ein vorübergehendes Gebilde, die letzte Phase in dem Prozeß der Chromatinaufnahme, der an den Enden der achromatischen Chromosomen beginnt, und nach der Mitte zu fortschreitet? Ich vermute, daß das tatsächlich der Fall ist.

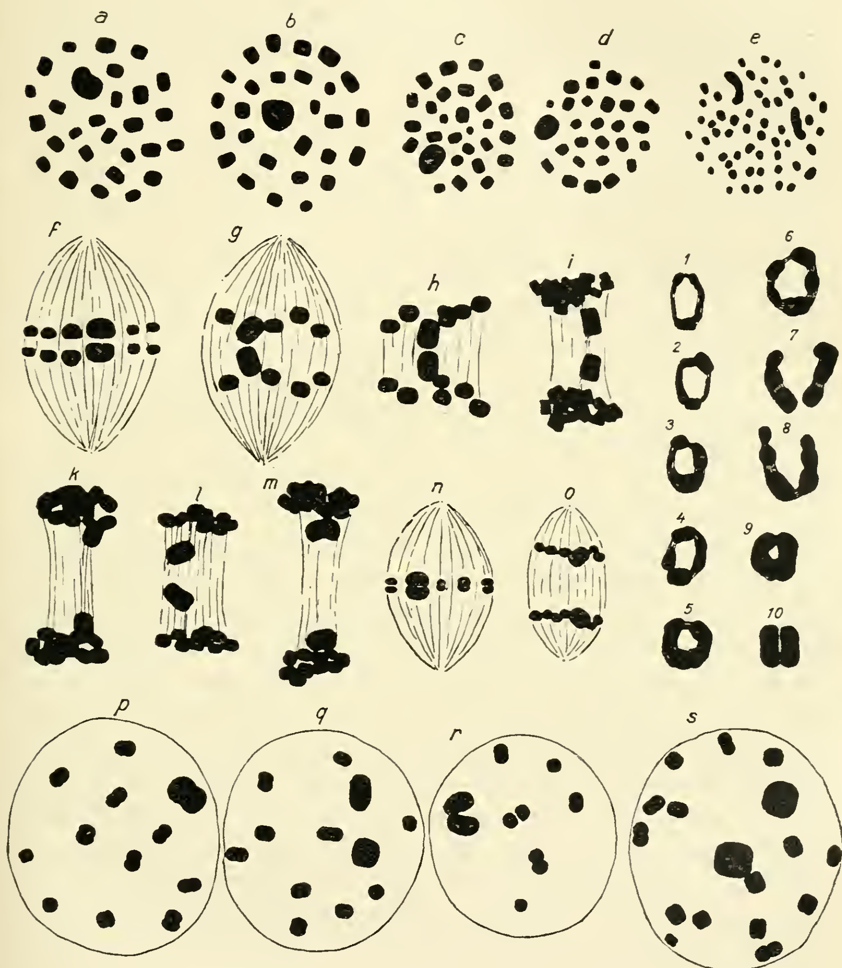
Einen überzeugenden Beweis dafür kann ich jedoch nicht erbringen. Doch hoffe ich, daß die folgenden Beobachtungstatsachen die Vermutung zum mindesten rechtfertigen.

Wie wir gesehen haben, verschwindet an der Autosomendyade die anfangs vorhandene achromatische Querbrücke (Fig. 70), und es bleiben an ihrer Stelle nur Querkerben (Textfig. 8 *p*). Nun folgen Stadien, wo die Dyade merklich kürzer wird und damit die Querkerben undeutlicher. Die Dyaden werden fast kubisch und man zweifelt oft, ob überhaupt noch Kerben vorhanden sind. Textfig. 8 *s*, zeigt eine Spermatocyte, deren Autosomen in allen Stadien dieser Übergangsperiode begriffen sind. Gegen die Metaphase der ersten Spermatocytenteilung zu, wenn die Dyaden sich einstellen in die Spindel, werden wieder Kerben deutlich sichtbar. Die stellen sich in die Äquatorialebene ein. — Das sind die Beobachtungstatsachen. Ob während dieser Vorgänge aber die ursprüngliche Längskante der Dyade zur Schmalkante wird, läßt sich durch direkte Beobachtung nicht entscheiden. Trifft das zu, so ist sicher, daß die erste Reifeteilung für die Autosomen, gleich wie für die Geschlechtschromosomen, die Reduktionsteilung ist. —

Die Angaben, die in der Literatur über den Verlauf der Spermatogenese bei Schmetterlingen vorliegen, gehen weit auseinander. Es kann nicht meine Aufgabe sein, all die Widersprüche kritisch zu beleuchten; das würde mich viel zu weit von meiner Aufgabe abführen, und zudem ist der Moment dazu jetzt ungeeignet, da Federley (13) eine ausführliche Spermatogenese der Schmetterlinge in Aussicht gestellt hat. Auch habe ich ja nur die Geschicke der Chromosomen verfolgt. Was die anbelangt, darf gesagt werden, daß mehr die Interpretationen der Autoren als Tatsachen zu verschiedenen Resultaten geführt haben. Das wird übrigens niemanden verwundern, der die Schwierigkeiten kennt, die die Spermatogenese der Schmetterlinge jedem Untersucher stellt. Doch liegen Anzeichen vor, die die Hoffnung aufkommen lassen, daß die Lösung der wichtigsten Fragen, in allererster Linie der Reduktionsprobleme, für die Schmetterlinge einheitlich sein wird. Ich weise nur auf die Übereinstimmung in den Formen der Prophasenchromosomen hin. Alle von mir untersuchten Schmetterlinge besitzen die für *fuliginosa* beschriebenen Prophasenchromosomen, ebenso *plantaginis*, *dominula*, *caja*, *lubricipeda*, die ich flüchtig darauf hin angesehen habe. Genau dieselben Prophasenchromosomen beschreibt auch Federley für die *Pygaera*-Arten. Bei einigen Saturniiden und einer *Acronycta*-Art scheinen nach Cook (10) und bei *Philomia cynthia* nach Dederer (07) Ringformen vorzuherrschen. Doch die kommen ja auch bei *fuliginosa* und *Pygaera*

vor, nur selten, und es kann zwischen ihnen und den stäbchenförmigen Chromosomen, wie ich gezeigt habe, kein prinzipieller Unterschied vorliegen.

Textfig. 8.



Phragmatobia fuliginosa. Spermatocyten. *a*, *b* Äquatorialplatten der ersten, *c*, *d* der zweiten Reifeteilnng. *e* Spermatogonienäqnatorialplatte. *f*—*m* Anaphasen der ersten, *n*, *o* der zweiten Reifeteilung. 1—10 das Kompaktwerden des Geschlechtschromosomenpaares. *p*—*s* Prophasen der ersten Reifeteilung. (In *p*—*s* ist die Vergrößerung etwas schwächer als tn *a*—*o*. Tubus nur 120 mm!) Vergr. 4080.

d) Die Spermatocytenteilungen.

Die Äquatorialplatten der ersten Spermatocytenteilung zeigen 28 Chromosomen (Textfig. 8 *a*, *b*), die dieselben Größenverhältnisse aufweisen,

wie die Chromosomen der Äquatorialplatten der ersten Reifeteilung im Ei. Es ist schon darauf hingewiesen worden, daß in den Spermatocyten die Geschlechtschromosomen eine andre Form besitzen, als in allen übrigen Keim- und Somazellen, sowohl des männlichen, als weiblichen Geschlechtes. Das Größenverhältnis zwischen den Autosomen und Geschlechtschromosomen bleibt jedoch dasselbe: Auch in den Spermatocyten ist das x-Chromosomenpaar ungefähr viermal so groß wie ein größeres Autosomenpaar.

Sehr instruktiv ist das Verhalten der Chromosomen während der Anaphase der ersten Reifeteilung. Sobald die beginnt, sehen wir die Autosomen gemeinsam vorrücken, während die x-Chromosomen noch zögernd in der Äquatorialebene verharren. Die Autosomen sind schon ein beträchtliches Stück vorgerückt, wenn die Geschlechtschromosomen auseinanderzuweichen beginnen. Das geschieht meist vorerst nur an einer Seite (*g*); bis sie sich auch an der gegenüberliegenden Seite endgültig getrennt haben, sind sie, wahrscheinlich von der Zugkraft der Spindeln, um 90° gedreht worden (*g*—*i*). In dieser Lage hinken sie den Autosomen nach, erreichen sie aber erst an den Spindelpolen (*k*). Oft auch bleiben die x-Chromosomen beim Vorrücken mehr oder minder in der Lage, die sie in der Metaphase inne hatten (*l*, *m*).

Ein Ruhestadium liegt nicht zwischen erster und zweiter Reifeteilung. Die Telophasenchromosomen lösen sich nicht auf, sondern verharren kurze Zeit in einem kugeligen Chromosomenklumpen, der allerdings verdächtig kernartig aussieht, bis sie sich in die Äquatorialplatten der zweiten Reifeteilung einstellen (*n*). Diese besitzen wieder 28 Chromosomen (*c*, *d*), die dieselben Größenverhältnisse aufweisen, wie die der ersten Spermatocytenteilung, nur daß sie bedeutend kleiner sind. Eine ungleiche Verteilung des Chromatins hat also in der ersten Reifeteilung sicher nicht stattgefunden. Ob das auch zutrifft für die zweite Reifeteilung, kann nicht mit Bestimmtheit angegeben werden; denn diese ist wenig übersichtlich und die Elemente sind sehr klein, zudem ballen sich die Chromosomen sehr bald zusammen und ein Zählen derselben in den Tochterplatten ist ganz unmöglich. So viel ist jedoch sicher, daß das große Chromosom auch hier sich gleich teilt, und es liegt kein Grund vor, für die übrigen Chromosomen etwas andres anzunehmen. Demnach erhalten alle Spermatozoen 28 Chromosomen, und das männliche Geschlecht ist monogamet.

Selbstverständlich hätte es interessiert zu erfahren, wie die Teilungsebenen der beiden Reifeteilungen zueinander stehen. Die erste Spermatocytenteilung war für die Geschlechtschromosomen sicher, für die Autosomen wahrscheinlich Längsteilung und Reduktionsteilung. Leider ver-

liert man nach der ersten Reifeteilung jede Orientierungsmöglichkeit an den Chromosomen, so daß über den Verlauf der zweiten Spermatocytenteilung nur Vermutungen ausgesprochen werden können. Nach dem, was wir während der Ovogenese erfahren haben, darf es für wahrscheinlich gelten, daß auch im Hoden die zweite Reifeteilung eine Längsteilung ist. Diese Vermutung wird namentlich dadurch gestützt, daß sowohl im männlichen, wie im weiblichen Vorkern und in den Furchungsmitosen die Querkerbe noch vorhanden ist, und das gewiß deshalb, weil keine Reifeteilung Querteilung ist. Stimmt das, so erhebt sich natürlich auch hier die Frage nach der Bedeutung der vorübergehend vorhandenen achromatischen Brücke und späteren Querkerbe der Prophasenautosomen. Darauf komme ich kurz im allgemeinen Teil meiner Arbeit zurück. Vorläufig sei nur so viel gesagt, daß man ohne weiteres die Querkerbe der Spermatocytenchromosomen (vorausgesetzt natürlich, daß beide Reifeteilungen Längsteilungen sind) homologisieren wird mit der Querkerbe der Ovocytenchromosomen.

Daß ein Unterschied zwischen der ersten und zweiten Spermatocytenteilung bestehen muß, geht aus dem Verhalten der Geschlechtschromosomen hervor. In der Anaphase der zweiten Reifeteilung rücken nämlich die x-Chromosomen immer gemeinsam mit den Autosomen vor (*o*), während sie, wie wir erfahren haben, in der ersten Reifeteilung immer gesondert gegen die Spindelpole wandern. Wir werden nicht fehlgehen, wenn wir diese Beobachtungstatsache mit den Reduktionsfragen in Zusammenhang bringen, da aus der Geschlechtschromosomenliteratur zahlreiche Fälle bekannt sind, wo die Geschlechtschromosomen in der Reduktionsteilung nachhinken, in der Äquationsteilung dagegen sich von den Autosomen nicht unterscheiden. Trotzdem alle diese Beispiele sich auf das dygamete Geschlecht beziehen, kann man nach den mitgeteilten Beobachtungen keinen Augenblick daran zweifeln, daß sie bei *fuliginosa* auch für das monogamete Geschlecht zutreffen, denn wir konnten ja durch direkte Beobachtung nachweisen, daß die erste Reifeteilung für die x-Chromosomen Reduktionsteilung ist.

Das Sonderverhalten der Geschlechtschromosomen von *fuliginosa* im monogameten Geschlecht würde somit darin bestehen, daß sie nach der Konjugation in der Synizesis wieder mehr oder minder auseinanderweichen, gelegentlich vollständig unabhängig voneinander werden und sich bis gegen die Metaphase der ersten Reifeteilung hin gesondert entwickeln. Ferner darin, daß sie in der Anaphase der Reduktionsteilung den Autosomen nachhinken, während sie in der Äquationsteilung mit denselben vorrücken.

Diese Beobachtungstatsachen haben in der gesamten Geschlechtschromosomenliteratur vorläufig noch kein Analogon. Die Vermutung liegt nahe, daß die Ursache dieser isolierten Stellung der Lepidopteren darin liegen könnte, daß im männlichen Geschlecht der besondere Charakter der Geschlechtschromosomen leichter in Erscheinung treten kann, als im weiblichen, daß also Faktoren, die außerhalb der Geschlechtschromosomen liegen, für ihr Verhalten verantwortlich oder doch mitbestimmend sind. Noch wahrscheinlicher jedoch ist es, daß die Ursache einfach darin liegt, daß das monogamete Geschlecht nur sehr selten studiert wurde und unsre Kenntnisse in dieser Hinsicht noch gar keinen Vergleich und keine allgemeinen Schlüsse zulassen.

Die wenigen sicheren Mitteilungen, die wir darüber besitzen, berichten übereinstimmend, daß die Geschlechtschromosomen im monogameten Geschlecht (bis jetzt war das immer das weibliche Geschlecht) sich verhalten wie die Autosomen. Das scheint allgemein zu gelten für Nematoden und trifft zu nach Gulick (10) für die weiblichen Keimzellen und Furchungsmitosen von *Heterakis*, nach Schleip (11) für die Ovogonien, die Eireifung und Furchung von *Angiostomum*, nach Krüger (12) für die Ovogonien und Furchungsmitosen von *Rhabditis*, nach Mulsow (12) für die weiblichen Keimzellen, die Eireifung und Furchung von *Ancyracanthus*. Morrill (10) berichtet dasselbe für einige Hemipteren: "the idiochromosomes behave exactly like the other chromosomes, in the oöcyte divisions, at fertilization and in the cleavage and early blastoderm stages" (Seite 109). Dasselbe gilt auch für einige Phylloxeriden nach Morgan (08, 09, 12) und Aphiden nach Stevens (05, 06, 09), Baehr (08, 09) und Morgan (09). Damit haben wir aber wohl schon alle sicheren Beobachtungen, die sich auf das monogamete Geschlecht erstrecken, erschöpft. Ihre Zahl ist verschwindend klein im Vergleich mit der großen Zahl der Formen, bei welchen Geschlechtschromosomen nachgewiesen wurden.

Für unsre Fragen ist das Schicksal der Chromosomen während der Spermiogenese ohne Interesse; deshalb können wir diese Stadien ruhig übergehen.

Die Hauptresultate der beiden letzten Kapitel können wir zum Schlusse kurz so zusammenfassen:

1. Die Spermatogonien besitzen höchstwahrscheinlich 56 Chromosomen, darunter sind zwei große x-Chromosomen.

2. Bis zu Ende des Diplotäns gleicht die Spermatogenese vollkommen der Ovogenese. Die hier gemachten Feststellungen gelten auch für die Spermatogenese.

3. Der Nucleolus der Spermatocyten ist ein gewöhnlicher Chromatinnucleolus und hat mit den Chromosomennucleolen nichts zu tun.

4. Die Formen der Prophasenchromosomen sprechen darür, daß Parallelkonjugation stattgefunden hat.

5. Beide Reifeteilungen sind für die Autosomen vermutlich Längsteilungen, und ihre Querkerben sind wahrscheinlich den Querkerben der Ovocytenchromosomen homolog.

6. Die x-Chromosomen, die sehr wahrscheinlich während der Synizesis konjugiert haben, treten bis zur Prophase wieder mehr oder minder auseinander und entwickeln sich oft vollständig getrennt bis gegen die Metaphase hin, um sich erst hier wieder zu vereinigen.

7. Die erste Reifeteilung ist für sie Längsteilung und Reduktionsteilung. Sie wandern gesondert an die Spindelpole.

8. Die zweite Reifeteilung ist Äquationsteilung, hier rücken sie mit den Autosomen vor.

9. Alle Beobachtungen sprechen dafür, daß in beiden Spermatocytenteilungen das Chromatin gleich geteilt wird. Alle Spermatozoen erhalten demnach 28 Chromosomen. Das männliche Geschlecht ist monogamet.

e) Die Chromosomen während der Kopulation, Furchung, Blastoderm- und Keimstreifenbildung.

Wie wir erfahren haben, besitzen alle Spermatozoen 28 Chromosomen, während die eine Hälfte der Eier ebenfalls 28, die andre 29 Chromosomen besitzt. Trifft die McClung-Wilsonsche Geschlechtschromosomentheorie auch für die Lepidopteren zu, so müssen zweierlei Embryonen resultieren. Vorausgesetzt, daß bei der Befruchtung keinerlei Veränderung an den Chromosomengarnituren der Gameten vor sich gehen, haben wir solche zu erwarten mit 56 Chromosomen, darunter die beiden x-Chromosomen und weiter solche, mit 57 Chromosomen, darunter das vom Spermatozoon stammende x-Chromosom und die beiden aus dem Ei stammenden y-Chromosomen. Die Embryonen mit 56 Chromosomen müssen zu Männchen sich entwickeln, denn nur Individuen, entstanden aus der Vereinigung zweier gleicher Gameten, können bei ihrer Reife wieder lauter gleiche Gameten erzeugen, in unserm Fall lauter Spermatozoen mit 28 Chromosomen. Die Embryonen mit 57 Chromosomen müssen sich zu Weibchen entwickeln, denn nur diese vermögen Gameten mit 28 und solche mit 29 Chromosomen zu bilden. Wie verhalten sich die wirklichen Verhältnisse zu unsern Erwartungen?

Der Versuch, die Vereinigung zweier ungleicher Gameten in den Prophasen zur Kopulation zu demonstrieren, mißlang, da die beiden

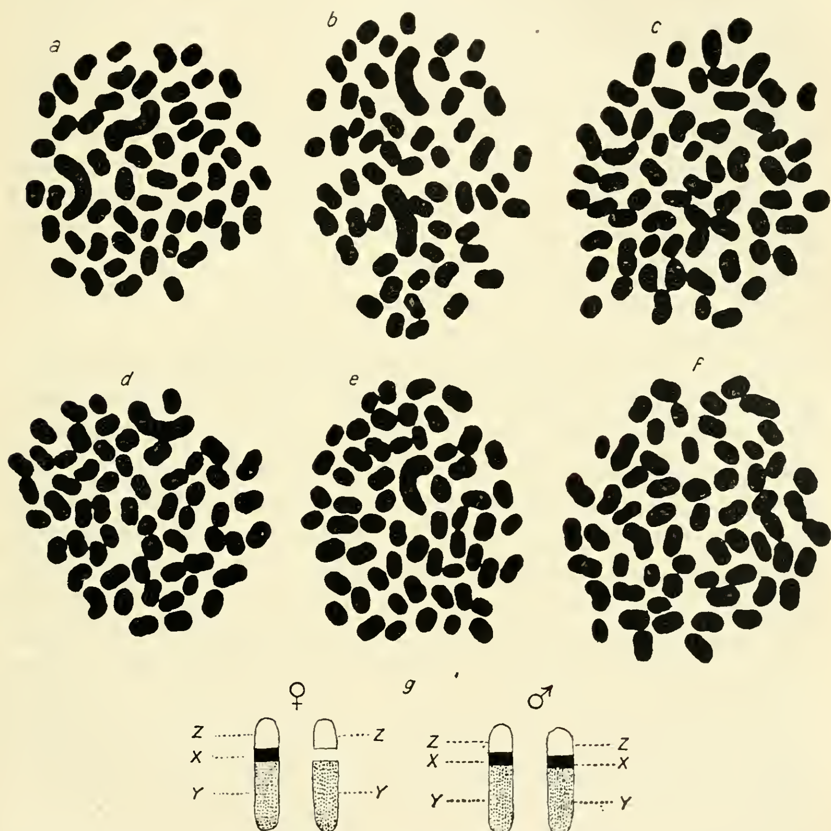
Geschlechtschromosomen nie in ihrer ganzen Länge in der Schnittebene lagen; höchstens fand sich gelegentlich das eine in dieser für die Reproduktion notwendigen Lage (Fig. 55). Ihre Anwesenheit jedoch kann in beiden Vorkernen konstatiert werden.

Nach der Konjugation beginnen die Furchungsteilungen, die Kernmaterial zur Bildung des Blastoderms liefern. Vom Moment der Befruchtung an, bis zum Zeitpunkt, wo die Furchungskerne gegen die Eiperipherie rücken, wo also die superfizielle Furchung beginnt, verstreicht eine geraume Zeit, bei *fuliginosa* wahrscheinlich gegen 20 Stunden. Inzwischen haben nur wenige Furchungsteilungen stattgefunden; schätzungsweise nur ungefähr zehn, oder wenige mehr. Da die Teilungen zudem rasch verlaufen und synchron sind, so sind die Aussichten Äquatorialplatten zu erhalten, die für ein Chromosomenzählen hätten benutzt werden können, äußerst gering. Anders während der nun einsetzenden Bildung des Blastoderms. Dieses soll nach den in der Literatur vorliegenden Angaben dadurch entstehen, daß so lange Furchungskerne an die Eiperipherie rücken, bis sich hier ein geschlossenes Epithel gebildet hat (Bobretzky 78). Diese Angaben sind falsch. Die Zahl der Furchungskerne, die aus dem Eiinnern ins Keimhautblastem vorrückt, ist relativ klein. Hier setzt nun eine rege Kernvermehrung ein, wobei das Plasma des Keimhautblastems sich um die jungen Blastodermkerne abrundet und so Zellen entstehen. Die Kernvermehrung wird so lange fortgesetzt, bis das Blastoderm vollständig geschlossen ist, Zelle an Zelle schließt. Der ganze Vorgang verläuft unglaublich rasch, in wenig mehr als einer Viertelstunde ist das Blastoderm schon fertig. Die Teilungsfiguren sind sehr groß, und die Chromosomenbilder der Äquatorialplatten schematisch klar. Trotz der im allgemeinen sehr hohen somatischen Chromosomenzahl der Schmetterlinge, kann sie auf diesen Stadien mit der größten Leichtigkeit und Sicherheit ermittelt werden. Aber schwer ist es, diesen kurzen Moment der Blastodermbildung ausfindig zu machen. Ich habe ihn bei *fuliginosa* verpaßt.

Wenn das Blastoderm fertig vorliegt, folgt eine lange Ruhepause. Hierauf hebt die Keimstreifenbildung an. Bei *fuliginosa* ist sie im 25 Stunden alten Ei im vollen Gange. Aus dieser Periode stammen die Chromosomenbilder der Textfig. 9. Die Äquatorialplatten dieser Entwicklungsperiode sind ebenso groß und ebenso klar, wie die der Blastodermstadien. Wenn man die Äquatorialplatten *a—f* vergleicht mit der in derselben Vergrößerung wiedergegebenen Spermatogonienäquatorialplatte in Textfig. 8 *e*, S. 223, so wird man ermessen können, wie viel sicherer die Zählresultate in diesen Furchungsmitosen sein müssen. Leider aber

sind die Kernteilungen während der Keimstreifenbildung nicht sehr häufig, auch war mein Zuchtmaterial beschränkt, und das meiste habe ich zudem verloren, nur um herauszufinden, auf welchen Entwicklungsstadien Mitosen vorkommen, die für das Chromosomenzählen günstig

Textfig. 9.



Phragmatobia fuliginosa. Äquatorialplatten somatischer Mitosen. *a* und *b* mit 56 Chromosomen, *c* mit 62, *d* und *e* mit 58, *f* mit 61. *g* Schema des *fuliginosa*-Typus. Vergr. 4080.

sind. So kommt es, daß ich nur aus acht Eiern klare Äquatorialplatten besitze. Die Chromosomen, die wir hier antreffen, gleichen an Form und Größe den Chromosomen der reifenden Eier. Die alte Querkerbe der Autosomen ist noch vorhanden, während sie auf den entsprechenden Stadien bei *dispar* und *monacha*, wie wir sehen werden, längst verschwunden ist. Da die Größenunterschiede der Autosomen wenig markant sind, und die Zahl derselben groß ist, gelingt es nicht, festzustellen,

ob jede Chromosomengröße zweimal vorhanden ist, ob die somatischen Kerne wirklich ein doppeltes Chromosomensortiment besitzen, was wir früher als unbewiesene Voraussetzung angenommen haben.

Die aus demselben Ei stammenden Äquatorialplatten *a* und *b* besitzen beide 56 Chromosomen, darunter die beiden auffälligen, schwach segmentierten Geschlechtschromosomen. Da diese an Größe sich genau gleichen, und ungefähr viermal länger sind, als ein Autosom, so müssen wir sie als x-Chromosomen bezeichnen. Nach dem früher Gesagten wissen wir bestimmt, daß ein Embryo mit diesen Chromosomenverhältnissen männlichen Geschlechts sein muß. Der direkte Beweis ergibt sich durch einen Vergleich mit den Chromosomen der Spermatogonien. Für diese stellten wir fest, daß die Gesamtchromosomenzahl sehr wahrscheinlich 56 ist, und daß darunter zwei gleich große x-Chromosomen sind — dieselben Feststellungen wie oben für die Embryonalzellen *a* und *b*, nur daß hier die Gesamtchromosomenzahl 56 sicher ermittelt werden kann.

Noch aus einem zweiten Ei besitze ich eine klare Äquatorialplatte mit 56 Chromosomen, darunter die beiden langen x-Chromosomen. Die gegenseitige Lage derselben ist verschieden. Davon überzeugte ich mich, außer in den angeführten Beispielen, in mehreren nicht ganz kompletten Äquatorialplatten, die aber die x-Chromosomen deutlich zeigten. Auch die Autosomen lassen nichts erkennen, was darauf hindeuten könnte, daß »homologe« (d. h. gleich große) Chromosomenpaare in Nachbarschaft sich befinden, was bekanntlich oft zutrifft, z. B. bei Dypteren nach Stevens (08), bei Orthopteren nach Sutton (02) und nach Untersuchungen von Strasburger (06, 07) und Rosenberg (05, 09) auch bei Pflanzen.

Die weiblichen Embryonen weisen nicht die Chromosomenverhältnisse auf, die wir bei ihnen erwarten. Ihre Gesamtchromosomenzahl ist 58; 57 vermuteten wir vorzufinden. Ein Blick auf die Äquatorialplatten klärt uns über diese Differenz auf. In den Äquatorialplatten *d* und *e*, die aus verschiedenen Eiern stammen, sehen wir nur ein Geschlechtschromosom, das, seiner Größe nach zu schließen, ein x-Chromosom sein muß. Das andre Geschlechtschromosom, zweifellos das größere y-Chromosom, muß sich in zwei Teilstücke aufgespalten haben, so daß wir jetzt im ganzen drei y-Chromosomen, ein x-Chromosom und 2 × 27 Autosomen haben, zusammen also 58 Chromosomen. Einen direkten Beweis, daß das größere y-Chromosom sich in zwei Stücke aufspaltet, kann ich nicht erbringen. Diese Annahme scheint mir jedoch unabweislich, weil die y-Chromosomen doch bei der Hälfte der Embryonen erscheinen müssen, da alle Eier sich entwickeln, und weil die Embryonen mit 58 Chromosomen nur ein großes Geschlechtschromosom besitzen und das sicher das

x-Chromosom ist. Eben so unabweislich ist die andre Annahme, daß die Embryonen mit diesen Chromosomengarnituren zu Weibchen sich entwickeln, weil wir sicher sagen können, daß aus ihnen keine Männchen werden können. Also bleibt nichts andres als Weibchen. Ich besitze im ganzen aus drei Eiern je eine Äquatorialplatte mit 58 Chromosomen.

Neben den Embryonen mit 56 und 58 Chromosomen scheinen noch solche mit 62 und 61 Chromosomen vorzukommen. Die Äquatorialplatte *f* hat 61, *c*, die aus einem andern Ei stammt, 62 Chromosomen; in einem dritten Ei fanden sich ebenfalls sehr wahrscheinlich 62 Chromosomen vor. Alle drei Bilder sind jedoch nicht ganz einwandfrei, die Chromosomen sind teilweise etwas verklebt, so daß Beobachtungsfehler nicht ausgeschlossen sind. Deshalb soll vorläufig auf diese Beobachtungen kein großes Gewicht gelegt werden. Ich erkläre sie so: die Embryonen mit 62 Chromosomen sind Männchen, in welchen die beiden x-Chromosomen in ihre vier Segmente zerfallen sind; so hätten wir 2×27 Autosomen und 2×4 x-Chromosomen, zusammen 62 Chromosomen. Die Embryonen mit 61 Chromosomen sind Weibchen, in welchen das x-Chromosom in seine vier Segmente aufsplittert, die y-Chromosomen verhalten sich wie gewöhnlich: so haben wir 2×27 Autosomen, 4 x- und 3 y-Chromosomen, zusammen 61 Chromosomen. Die getroffenen Annahmen haben absolut nichts unwahrscheinliches an sich, denn ein Aufspalten von Geschlechtschromosomen in den somatischen Kernen ist schon oft beobachtet worden. Es sei nur erinnert an die Chromosomenverhältnisse von *Syromastes marginatus*. Das Weibchen besitzt 20 Autosomen und vier Geschlechtschromosomen, das Männchen 20 Autosomen und zwei Geschlechtschromosomen, die in den Spermatocyten vereinigt sind zu einem ungleichen Paar, welches in den somatischen Kernen wieder in seine Komponenten zerfällt (Wilson 09). Nach einer älteren Angabe von Gross (04) sollen die Ovogonien von *Syromastes*, gleich wie die Spermatogonien, nur 22 Chromosomen besitzen. Gross hält noch 1912 an der alten, für seine Geschlechtschromosomenhypothese entscheidenden Beobachtung fest. Da sie im Gegensatz steht zu allen unsern Kenntnissen über das Verhalten der Geschlechtschromosomen, hat man das Recht, sie so lange unberücksichtigt zu lassen, bis Gross durch neues Beweismaterial die Angaben Wilsons (es sei zugegeben, daß diese selbst noch nicht vollständig befriedigend ausgearbeitet sind. Welches ist das Verhalten der verschieden großen x-Chromosomen während der Synapsis im weiblichen Geschlecht?) entkräftet. *Phylloxera fallax* weist nach Morgan (09, 12) ebenfalls ganz analoge Verhältnisse auf. Auch hier verschmelzen die Geschlechtschromosomen in den reifenden Keimzellen (in

Spermatocyten und im Ei der Weibchen produzierenden flügellosen Form), und hierauf folgt in den somatischen Kernen wieder Trennung derselben. *Thyanta custator* besitzt nach Wilson (11) gewöhnlich zwei inäquale Idiochromosomen, an deren Stelle aber gelegentlich drei Idiochromosomen vorhanden sind. Bei *Ascaris lubricoides* (Edwards 10) sind in den Spermatocyten die x-Elemente vereinigt, in den somatischen Kernen getrennt. Bei *Ascaris megalocephala* (Boring 09, Boveri 09) sind die x-Chromosomen frei oder mit Autosomen verbunden. (Vgl. ferner Browne [13] *Notonecta* usw.) Zudem hat der Zufall mir in *L. monacha* eine weitere Form in die Hand gespielt, deren Keimzellen ebenfalls ein auffällig großes Chromosom besitzen, das sich in den Somakernen aufspaltet. Auch hier ist die haploide Chromosomenzahl 28, die diploide für das eine Geschlecht 62. Daß endlich Formen vorkommen, die mehrere Geschlechtschromosomen besitzen, ist ebenfalls schon längst bekannt, und trifft z. B. zu für eine ganze Anzahl von Hemipteren: *Conorrhinus*, *Prionidus*, *Sinea*, *Gelastocoris*, *Acholla* (Payne 09).

Daß die Aufsplitterung der x- und y-Chromosomen von *fuliginosa* unmittelbar nach der Vereinigung der Vorkerne stattfindet, scheint mir sicher. Wann aber die Wiedervereinigung sich vollzieht ist noch fraglich. Vielleicht bei der Herausdifferenzierung der Keimbahn; wahrscheinlicher erst während der Synapsis. Die Chromosomenzahlen in Ovogonien- und Spermatogonienteilungen müssen darüber aufklären. Leider kenne ich aber vorläufig die Ovogonienteilungen noch nicht, und Spermatogonienmitosen besitze ich nur aus zwei Hoden, in diesen ist die Chromosomenzahl wahrscheinlich 56.

Selbstverständlich befriedigen mich selbst die mitgeteilten Beobachtungen über die somatische Chromosomenzahl noch nicht. Sobald ich neues Material erhalten kann, sollen alle schwebenden Fragen endgültig entschieden werden. Vorläufig darf so viel als sicher gelten, daß die Digametie des weiblichen Geschlechts von *fuliginosa* auch in den somatischen Kernen zum Ausdruck kommt, daß die Chromosomengarnituren der weiblichen Kerne verschieden sind von denjenigen der männlichen. — Wenn wir von der Aufsplitterung der Geschlechtschromosomen absehen und Rücksicht nehmen auf die Versuche Wilsons, die verschiedenen Typen geschlechtsbestimmender Chromosomen zueinander in Beziehung zu bringen, so können wir für den neuen »*Fuliginosa*-Typus« etwa ein Schema aufstellen, wie es in Textfig. 9*g*, S. 229, wiedergegeben ist, wobei der wesentliche Unterschied zwischen beiden Geschlechtern darin liegt, daß das monogamete zwei x-Elemente, das digamete nur ein x-Element besitzt. Die übrigen Teile der Geschlechtschromosomen,

die ich mit *z* und *y* bezeichnet habe, können ihrer Natur nach identisch sein mit den bei so vielen Formen nachgewiesenen y-Chromosomen. Der *Fuliginosa*-Typus wäre somit nichts andres, als ein »reziproker« *Lygaeus*-Typus. Eine Verwandtschaft mit dem *Ascaris*-Typus zu konstruieren, wie ich es in der vorläufigen Mitteilung (13) versucht habe, geht wegen der Größenverhältnisse der Geschlechtschromosomen nicht ungezwungen. Wohl aber kann angenommen werden, daß die Abschnitte *z* und *y* ihrem Werte nach ein oder mehrere Autosomen vorstellen, mit welchen das x-Element vereinigt bleibt. So wäre der *Fuliginosa*-Typus ein reziproker *Ascaris*-Typus. Es ließen sich leicht noch andere Möglichkeiten ausdenken, die jedoch so naheliegend sind, daß ich sie nicht aufzuzählen brauche.

3. Lymantria dispar und L. japonica.

Der Gedanke lag nahe, daß die interessanten, durch die Kreuzungsexperimente Goldschmidts aufgedeckten Beziehungen, die zwischen *Lymantria dispar* und *L. japonica* bestehen, irgendwie in den chromosomalen Verhältnissen zum Ausdruck kommen könnten. Daß etwa das Vorhandensein von morphologisch verschiedenen Geschlechtschromosomen in beiden Formen das Auftreten der Gynandromorphen bei Bastardierung cytologisch begreiflich machen würden. Solche Vermutungen ließen es mir wünschenswert erscheinen, die cytologischen Verhältnisse von *dispar* und *japonica* zu studieren. Ich verwendete auf die Untersuchung viel Sorgfalt und Zeit und habe von *dispar* allein wohl über 2000 Eier geschält und geschnitten. Die Resultate seien gleich mitgeteilt: Zwischen *L. dispar* und *L. japonica* existiert kein greifbarer Unterschied in den Chromosomenverhältnissen, nur sind die *japonica*-Chromosomen wenig größer, als diejenigen von *dispar*. Weder bei der einen, noch bei der andern Form konnte ein Geschlechtschromosom nachgewiesen werden. Auch zeigte der Bastard in seinen chromosomalen Verhältnissen keine Abweichung von den Elternformen. Wenn ich trotzdem die Befunde kurz schildere und mit beweisendem Abbildungsmaterial illustriere, so geschieht das deshalb, weil möglicherweise später meine Feststellungen als Ausgangspunkt für eine subtilere Chromosomenanalyse benutzt werden könnten, weil ich an verschiedenen Stellen meiner Arbeit mich auf die Chromosomenbilder von *dispar* berufen muß und endlich, weil neue Beobachtungen für die Reduktionsfragen gewonnen werden können.

a) Eireifung.

Die ersten Phasen der Ovogenese von *dispar* und *japonica* gleichen den entsprechenden von *fuliginosa*. Ich habe nichts Neues hinzu-

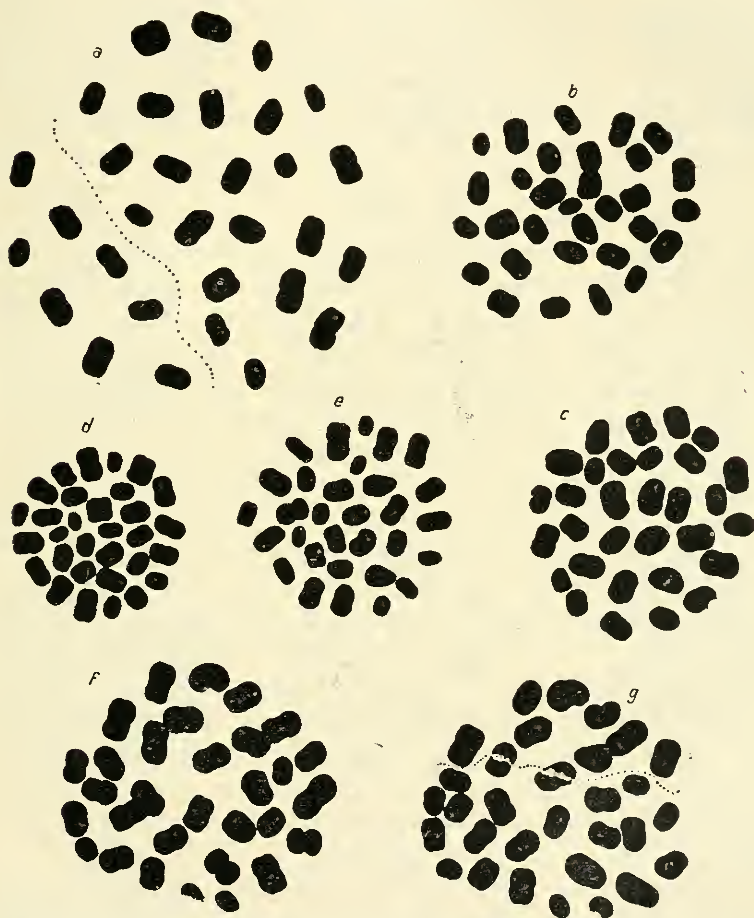
zufügen. Auch hier vollzieht sich sicher die Pseudoreduktion während der Synizesis, auch hier kann die Bivalenz der Chromosomenschleifen leicht festgestellt werden, und der große Nucleolus ist ein gewöhnlicher Chromatinnucleolus. Die Prophasen zu den Reifeteilungen kenne ich auch für *dispar* und *japonica* nicht. — Nachgeholt kann hier noch werden, daß die Angaben Doncasters über die Ovogenese von *Pieris* und *Abraxas* darin mit den meinigen in Übereinstimmung stehen, daß auch nach Doncaster die Pseudoreduktion sich während der Synezisis vollzieht. Die Verkürzung der Chromatinschleifen zu den Tetraden der Nährzellen soll aber so vor sich gehen, daß die Schleifen sich umbiegen, hufeisenförmig werden und an der gekrümmten Stelle durchtreten. Vorher kann gelegentlich ein Längsspalt entdeckt werden. Doncasters Mitteilungen über den Ovocytennucleolus habe ich schon kritisch besprochen.

Die Äquatorialplatten der ersten Reifeteilung zeigen 31 Chromosomen und zwar sowohl bei *japonica* (Textfig. 10*a*), als auch bei *dispar* (*b*, *c*). Die relativen Chromosomengrößen sind bei beiden Formen ebenfalls dieselben, und zwar haben wir eine ganze Skala von Größenordnungen unter den Chromosomen, von ganz kleinen bis zu ungefähr viermal größeren. Deshalb gelingt es auch nicht, sie auseinanderzuhalten. Am ehesten noch ist das möglich bei den kleinsten, denn die drei oder vier kleinsten sind in allen Chromosomenplatten von den übrigen Größenordnungen ziemlich gut abgegrenzt. Die absoluten Chromosomengrößen sind zwischen *japonica* und *dispar* etwas verschieden; *japonica* besitzt größere Chromosomen, und zwar kommt das in den Eiern eher zum Ausdruck, als in den Spermatocyten. Da jedoch die Unterschiede nicht bedeutend sind, zudem die relativen Größenverhältnisse bei beiden Formen dieselben sind, habe ich die übrigen Phasen der Eireifeteilung nur noch für *dispar* und den Bastarden *dispar* × *japonica* untersucht.

Alle Tochterplatten der ersten Reifeteilung besitzen 31 Chromosomen. Ein Heterochromosom kann also sicher nicht vorhanden sein. Wieder können wir konstatieren, wie bei *fuliginosa*, daß eine Lagenverschiebung der Chromosomen während des Vorrückens in der Anaphase nicht stattfindet. So ist es möglich, die zusammengehörigen Tochterchromosomen leicht herauszufinden. Das wird z. B. gut gelingen, in den Tochterplatten *d* und *e*, die beide gleich orientiert sind; weniger sicher in *f* und *g*, weil hier die eine Platte durchschnitten ist, und das Messer hart an den unteren Chromosomen der andern Platte vorbeigefahren ist. Vergleichen wir die Größe der homologen Chromosomen in *d* und *e*, so ergibt sich, daß ziemlich genaue Übereinstimmung herrscht; sollte ein Chromosomenpaar der Äquatorialplatte inäqual sich geteilt haben, also

Idiochromosomen vorliegen, so ist sicher, daß der Größenunterschied zwischen x- und y-Chromosom gering sein muß. Solche kleine Unterschiede zeigen sich schon. So haben wir z. B. in *e* oben zwei kleine, gleiche

Textfig. 10.



Lymantria dispar und *Lymantria japonica*. *a* Äquatorialplatte der ersten Reifeteilung von *japonica* *b* und *c* von *dispar*. *de* und *fg* Tochterplatten der ersten Reifeteilung von *dispar*. Vergr. 4050.

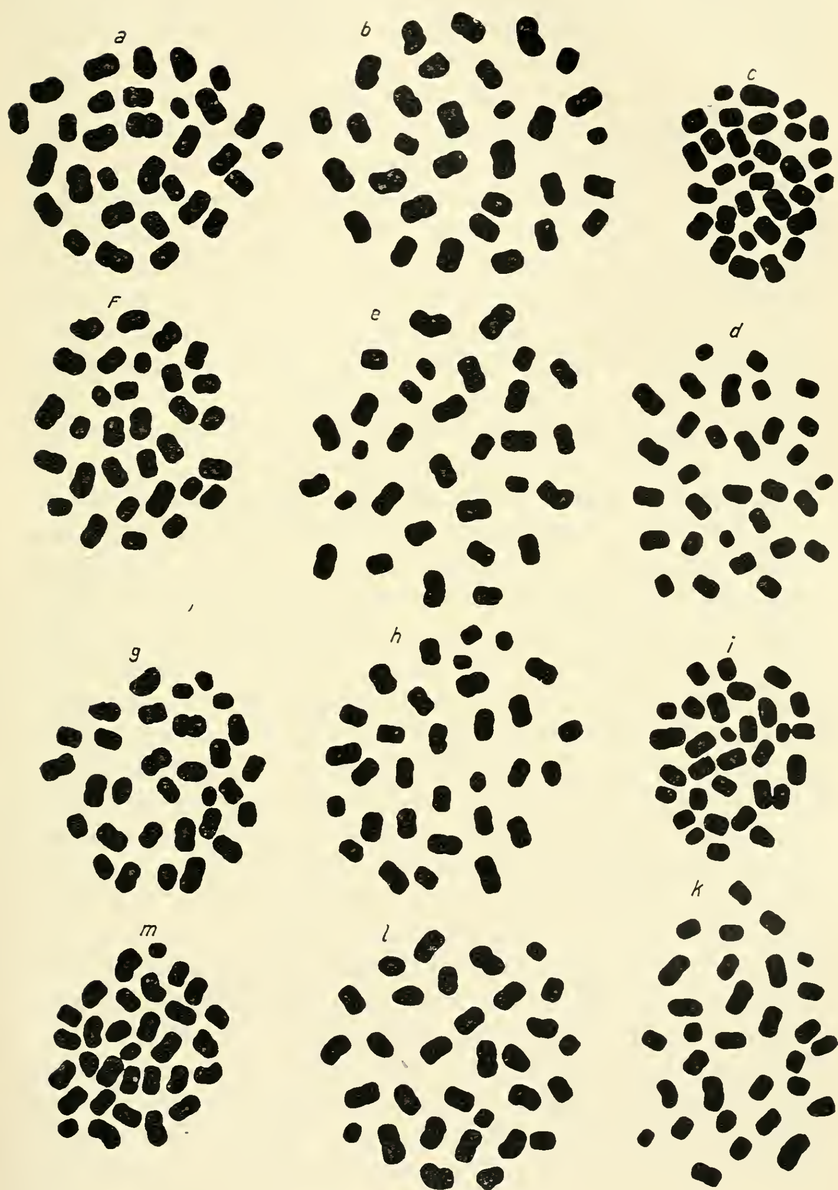
Chromosomen untereinander, in *d* dagegen ist das untere von beiden bedeutend größer. Diese Beobachtung ist schuld, daß ich lange Zeit im Glauben war, bei *dispar* ein x y-Paar gefunden zu haben, bis ich mich schließlich durch das Vergleichen von zahlreichen, vollständig klaren, zusammengehörigen Äquatorialplatten der zweiten Reifeteilung, einige

wenige davon sind in der Textfig. 11 wiedergegeben, überzeugte, daß die erste Reifeteilung nicht inäqual ist. Da sehr häufig durch Zufälligkeiten Unterschiede vorgetäuscht werden, war es außerordentlich zeitraubend und mühsam, zur Sicherheit zu gelangen. Einzig der günstige Umstand, daß die *dispar*-Eier orientiert werden konnten, ermöglichte es, genügend einwandfreie Äquatorialplattenpaare, die ganz in der Schnittdicke und Schnittebene lagen, zu erhalten. Ich muß es dem Leser überlassen, an Hand des Abbildungsmaterials der Textfig. 11, die ich unmöglich eingehend besprechen kann, sich durch Vergleichung der zusammengehörigen, gleich orientierten Äquatorialplatten davon zu überzeugen, daß meine Feststellung richtig ist. Dabei ist zu beachten, daß die Identifizierung der homologen Chromosomen nicht mehr so leicht ist wie in der Anaphase; oft überhaupt deshalb unmöglich wird, weil, während des Vorrückens der inneren Tochterplatte durch die mächtigen Dottermassen gegen das Eicentrum zu, ihre Chromosomen zusammengedrängt werden und leicht Verlagerungen vorkommen. So kommt es, daß die Äquatorialplatten der inneren Spindeln (*a*, *f*, *g*, *m*, *c*, *i*) viel kleiner sind, als die der äußeren (*b*, *e*, *h*, *l*, *d*, *k*), welchen im weiten Richtungsplasma Raum genug zur Verfügung steht. Trotz dieser neuen Schwierigkeit dürfte es gelingen, sich zu überzeugen, daß die erste Reifeteilung nicht inäqual war.

Nachzuweisen, ob das auch zutrifft für die zweite Reifeteilung, ist unmöglich. Die Elemente sind zu klein, und es hält zu schwer, ganze und deutliche Tochterplatten zu erhalten. Es kann nur so viel mitgeteilt werden, daß in Seitenansichten von zweiten Reifespindeln nichts beobachtet werden konnte, was auf eine inäquale Teilung schließen ließe. Auch rücken die Chromosomen in der Anaphase gemeinsam miteinander gegen die Spindelpole vor (Fig. 35), gleich wie in der ersten Reifeteilung. Die somatische Chromosomenzahl klärt weiter darüber auf, das kann vorgreifend gesagt werden, daß kein Heterochromosom vorhanden sein kann, denn alle Embryonen besitzen dieselbe somatische Chromosomenzahl.

Noch wäre zu untersuchen, welche Reifeteilung Reduktions-, welche Äquationsteilung ist. Auch das zu entscheiden ist unmöglich. Wir können nur wiederholen, was wir früher für *fuliginosa* feststellten. Weil sehr wahrscheinlich Parallelkonjugation vorliegt und wahrscheinlich die Längsachse der Tetrade mit der Längsachse der bivalenten Chromosomenschleife zusammenfällt, ferner weil sicher beide Reifeteilungen senkrecht aufeinanderstehende Längsteilungen sind, muß eine Reifeteilung Reduktionsteilung sein. Bei *fuliginosa* ist es, nach dem Verhalten der Geschlechtschromosomen zu schließen, vermutlich die erste

Textfig. 11.



Lymantria dispar. Äquatorialplatten der zweiten Reifeteilung. Es gehören zusammen *ab*, *cd*, *cf*, *gh*, *ik* und *lm*. Die kleinere Chromosomenplatte ist immer die des Richtungskörpers. Vergr. 4080.

Reifeteilung. Ein Analogieschluß auf die Verhältnisse von *dispar* wäre nicht zulässig, denn wir wissen zur Genüge, daß in cytologischer Beziehung selbst nah verwandte Formen sich oft sehr verschieden verhalten.

b) Samenreifung.

Was schon die Ovogenese zeigte, bestätigt auch die Spermatogenese: zwischen *japonica* und *dispar* existiert cytologisch kein Unterschied. Der Verlauf der Samenreifung beider Formen gleicht bis in die Prophasenstadien genau dem von *fuliginosa*. Erst die Vorbereitungen zu den Reifeteilungen zeigen einige neue Züge, die wir nun schildern wollen. Der Nucleolus bleibt etwas länger chromatisch als bei *fuliginosa*; er ist meist noch vorhanden, wenn die Umrisse der Prophasenchromosomen schon deutlich sind. Aber auch hier kann er leicht durch alle Stadien der Auflösung bis zum vollständigen Verschwinden verfolgt werden. Von einem Übergehen in ein Prophasenchromosom kann absolut keine Rede sein. Der Spermatocytennucleolus ist also auch bei *dispar* und *japonica* ein gewöhnlicher Chromatinnucleolus, kein Chromosomennucleolus.

Alle Typen von Prophasenchromosomen, die mir zu Gesicht gekommen sind, sind in der Fig. 71 vereinigt, und zwar in verschiedenen Stadien des Kompaktwerdens. Sofort fällt in die Augen, daß die Chromosomen viel größer sind, als die von *fuliginosa*, was übrigens auch aus allen Chromosomenbildern der Textfiguren hervorgehen wird. Immerhin mag die Fixierung (Carnoy! bei *fuliginosa* Osmiumsäuregemische) diese Größenunterschiede etwas auffälliger gemacht haben, als sie normalerweise wohl sind. Das Endresultat des Kompaktwerdens der Prophasenchromosomen ist dasselbe wie bei *fuliginosa*; es resultiert eine Dyade (Fig. 71, 5), die sich auch bei *dispar* und *japonica* mit ihrer Längsachse parallel zur Spindelachse in die Äquatorialplatte der ersten Reifeteilung einstellt (Textfig. 12*e*, S. 241). Die Übergangsformen, die zu dieser Dyade führen, sind viel mannigfaltiger in ihrer Form, als bei *fuliginosa*, zugleich aber auch viel klarer. Was hier nur schwach angedeutet ist kann bei den *Lymantria*-Formen mit Leichtigkeit erkannt werden. Das gilt namentlich von der Existenz des Längsspaltes an den stäbchenförmigen (Fig. 71, 15), geschlängelten (14), oder V-förmigen Chromosomen (16), welche drei Typen die große Mehrzahl der Prophasenchromosomen ausmachen. Die übrigen Typen, die in Fig. 71 vereinigt sind, kommen seltener vor. Zweifellos ist der Längsspalt identisch mit dem Längsspalt der bivalenten Chromosomenschleifen, der die univalenten Paarlinge trennt. Wichtig ist, daß dieser Längsspalt erkennbar bleibt an den aufeinanderfolgenden Kontraktionsstadien der Prophasenchromosomen. Die Chro-

mosomen 14, 15, 7, 2, 8, 5 mögen das für eine Reihe von Übergängen zur Dyade zeigen. Bei 7, 2, 8 geht die Längsachse der bivalenten Chromosomenschleife über in die Querachse der Dyade. Ob diese Stadien tatsächlich so aufeinander folgen, kann natürlich nicht direkt bewiesen werden. Sehr wahrscheinlich dürfte diese Annahme deshalb zutreffen, weil 7, 2, 8 sehr häufig vorkommen, die Ring- oder Kreuzformen aber, von welchen sie eventuell noch abgeleitet werden könnten, selten sind. Die Ringformen, die *dispar* und *japonica* aufweisen (9, 10), nehmen ebenso unregelmäßig das Chromatin auf, wie die von *fuliginosa*, so daß man über ihre Zusammensetzung nicht ins klare kommt. Doch sind auch hier wieder zwischen den Ringen und den gewöhnlichen Prophasenchromosomen alle wünschbaren Übergänge (12, 6, 4) vorhanden, welche zeigen, daß überall zwei parallel gelagerte Chromosomen vorliegen, die in der Mitte mehr oder minder weit auseinandergerückt sind.

Noch in einer andern Beziehung sind Zwischenformen wie 12 und 6 interessant. Man könnte auf die Vermutung kommen, daß die Kniestelle in der Mitte der Chromosomen die zukünftige Querteilung andeutet; oder, wer die Gründe, die zur Annahme von Parallelkonjugation geführt haben, nicht anerkennen will, wird annehmen, daß an der Kniestelle die längsgespaltenen Paarlinge end-to-end verklebt sind. Die Teilung, die hier durchgeht, müßte somit die Reduktionsteilung sein. Die vorliegenden Tatsachen sprechen aber entschieden gegen beide Annahmen. Wohl ist die Kniestelle oft in der Mitte der Chromosomenschleife, aber ebensooft oder noch häufiger liegt sie unsymmetrisch, wie in 12 und 6, oder noch weiter seitlicher. Die Querteilung, die ihr folgen würde, müßte die Chromosomen inäqual teilen, oder die end-to-end-Konjugation müßte zwischen ungleichen Paarlingen sich vollzogen haben. Eine inäquale Chromosomenteilung bei *dispar* und *japonica* gibt es aber nicht und kann es nicht geben, weil in jeder Äquatorialplatte der ersten Reifeteilung dieselben Größenunterschiede zwischen den Chromosomen auftreten. Eine end-to-end-Konjugation ungleicher Paarlinge ist aus demselben Grunde unmöglich und widerspricht zudem allen unsern Erfahrungen. Es bleibt nur eine Möglichkeit: die Kniestelle ist durch Zufälligkeiten hervorgerufen, sie hat mit einer Querteilungsebene nichts zu tun. Eine solche ist an den Prophasenchromosomen überhaupt nie angedeutet, denn die achromatische Brücke der *fuliginosa*-Chromosomen fehlt bei *dispar* und *japonica*, oder ist mir doch bei der angewendeten Fixierungsmethode nur bei Typen wie 6 zu Gesicht gekommen.

Neben den erwähnten Typen von Prophasenchromosomen kommen noch Kreuzformen (1, 3, 13) vor, welche bei *fuliginosa* fehlen, oder

wahrscheinlicher eher übersehen worden sind. Wie entstehen sie? Ich glaube Chromosom 12 deutet den Weg an und ist vielleicht ein Anfangsstadium. Wird die begonnene Ablagerung von Chromatin an den Kniestellen fortgesetzt und dabei die achromatische Unterlage etwas zusammengezogen, wie das an einem Ende von Chromosom 12 geschieht, so entsteht die Kreuzform (13). Daß sie diese Genese haben kann, wird dadurch sehr wahrscheinlich, daß die Arme des Kreuzes, analog den Verhältnissen bei den Typen 12 und 6, sehr verschieden lang sein können; gelegentlich sind alle gleich lang (13), meist aber ungleich, wie bei 1, oder noch auffälliger, etwa so, daß der kurze Balken mehr gegen das eine Ende des langen zu liegen kommt. So kann natürlich nur die Ebene äqual teilen, die durch den langen Balken zieht; und das wäre zweifellos die Reduktionsteilung. Die Umwandlung der Kreuzform in die Dyade ist schwer verfolgbar. Der alte Längsspalt wird undeutlich oder verschwindet ganz (13); von hier mag der Weg über 3 zur Dyade 5 führen. Mag unsre Auffassung von der Kreuzform stimmen oder nicht, so viel ist wohl sicher, daß die Dyade, die aus ihr hervorgeht, denselben Bau hat, wie die übrigen. Denn es kann unmöglich angenommen werden, daß die Kreuzform (ebenso die Ringform) zu etwas prinzipiell Neuem führt, da sie nur gelegentlich auftritt.

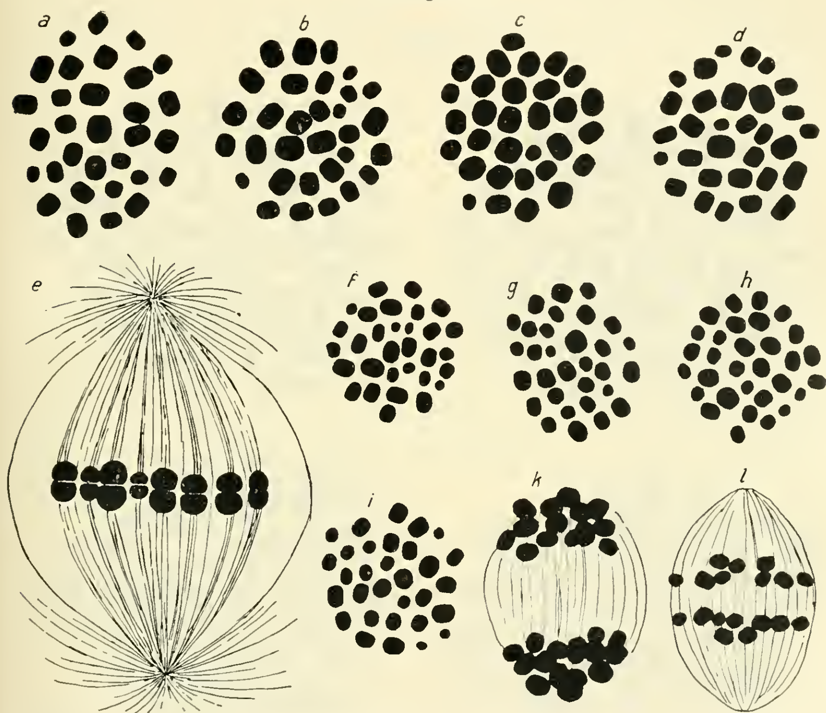
In einem einzigen Fall ist mir ein Prophasenchromosom (11) begegnet, dessen Paarlinge in der Mitte und zudem an einem Ende den Kontrakt verloren haben und auseinanderklaffen, ähnlich wie wir es von den x-Chromosomen von *fuliginosa* kennen. Zum Glück ist dieses Prophasenchromosom auf dem Dyadenstadium. In diesem Fall kann man über die Zusammensetzung der Dyade wohl keinen Moment im Zweifel sein. Jede Hälfte besteht aus einem Chromosom. Was aber für diesen Fall gilt, gilt sicher auch für alle andern.

So führen alle Beobachtungen dazu, daß im Hinblick auf die bivalente Chromosomenschleife die erste Reifeteilung eine Längsteilung sein muß, und daß sie sehr wahrscheinlich die Reduktionsteilung ist. Es kann gleich hier mitgeteilt werden, daß über den Verlauf der zweiten Teilungsebene keine Anhaltspunkte gewonnen werden können. Da beide Reifeteilungen im Ei Längsteilungen sind, werden wir geneigt sein, das auch für die Spermatocytenteilungen anzunehmen.

Erwähnt sei schließlich noch, daß gelegentlich an den Prophasenchromosomen kleine Chromatinkügelchen an feinen Fäden hängen (3). Über die Bedeutung dieser Erscheinung weiß ich nichts. Handelt es sich vielleicht um einen Eliminationsprozeß?

Die Äquatorialplatten der ersten Reifeteilung von *dispar* (Textfig. 12 *a*, *b*) und *japonica* (*c*, *d*) besitzen 31 Chromosomen, die dieselben Größenverhältnisse aufweisen, wie die Chromosomen der reifenden Eier. Auch in den Spermatocyten sind alle Übergänge von ganz kleinen Chromosomen bis zu mindestens viermal größeren vorhanden. Man mag Äquatorialplatten untersuchen, so viel man will, immer wieder zeigen sich

Textfig. 12.



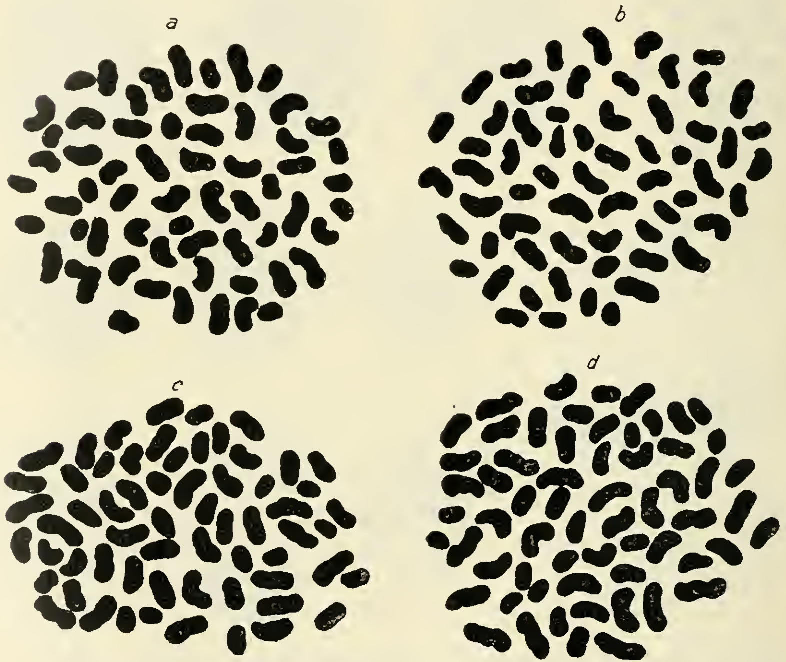
Lymantria dispar und *L. japonica*. Spermatocyten. Äquatorialplatten der ersten Reifeteilung, *a*, *b* von *dispar*, *c*, *d* von *japonica*, *e* Metaphase, die Kernmembran ist noch vorhanden. *f*, *g* Äquatorialplatten der zweiten Reifeteilung von *dispar*, *h*, *i* von *japonica*. *k* Anaphase der ersten, *l* der zweiten Reifeteilung. Vergr. 4080.

dieselben Größenordnungen (vgl. *a*—*d* und *f*—*i*). Diese Beobachtung ist wichtig für die Reduktionsfragen; wir werden uns später darauf berufen. Die erste Reifeteilung teilt das Chromatin nicht inäqual, denn sämtliche Äquatorialplatten der zweiten Spermatocytenteilung besitzen wieder 31 Chromosomen mit den bekannten Größenunterschieden (*f*—*i*). Ein Chromosom, das in der Anaphase (*k*) nachhinken würde, gibt es nicht. Das gilt auch für die Anaphase der zweiten Reifeteilung (*l*), welche ebenfalls, so viel wenigstens ermittelt werden kann, nicht inäqual teilt.

c) Die somatische Chromosomenzahl.

Wie für *fuliginosa* mitgeteilt wurde, kann die somatische Chromosomenzahl am besten ermittelt werden während der Blastodermbildung. Die findet bei *dispar* und *japonica* im 39 Stunden alten Ei statt. Die Kernvermehrung beginnt an einem Eipol und zieht sich von da rasch über die ganze Eioberfläche. Ist die Mitosenwelle am Äquator ange-

Textfig. 13.



L. dispar und *L. japonica*. Äquatorialplatten von Blastodermmitosen. Die Chromosomenzahl ist 62. Vergr. 4080.

langt, so kann man von hier gegen den Pol zu alle aufeinanderfolgenden Phasen der Kernteilung nacheinander antreffen. Die Vermehrungsperiode läuft rasch ab; auf sie folgt eine lange Ruhepause; dann hebt die Kernvermehrung von neuem an. In kurzer Zeit ist das Blastoderm fertig, und es gelingt nicht leicht, die Embryonen im Moment der Teilungsperiode zu ertappen. Unter sicher mehr wie 200 Embryonen, alle auf dem Stadium der Blastodermbildung, erhielt ich kaum 10 mit Kernteilungen. Nun wird es begreiflich werden, daß Bobretzky zutreffende Abbildungen

(vgl. Lehrbuch der Zool. v. Hertwig. 10. Auflage Fig. 106) von Schmetterlingseiern auf dem Stadium der Blastodermbildung geben konnte, ohne von dem Vorgang selbst eine richtige Vorstellung erhalten zu haben.

Die Textfig. 13 enthält aus vier verschiedenen Eiern je eine Äquatorialplatte. Die Chromosomenzahl kann mit Leichtigkeit und absoluter Sicherheit ermittelt werden. In jeder Platte sind 62 Chromosomen vorhanden. Andre Mitosen in denselben Eiern wiesen die gleiche Chromosomenzahl auf. Zählungen in andern Eiern ergaben immer wieder dasselbe, und zwar bei *dispar* und *japonica*. Damit steht fest, daß Heterochromosomen nicht vorhanden sein können. Besitzen beide Formen vielleicht Idiochromosomen (x-y-Chromosomen)? Kaum, denn nirgends im ganzen Chromosomencyklus ließ sich etwas nachweisen, was für diese Annahme sprechen würde.

4. Lymantria monacha.

Lymantria monacha besitzt eigenartige, äußerst interessante Chromosomenverhältnisse, die stark von den eben geschilderten von *dispar* und *japonica* abweichen und eher Verwandtschaft zeigen zu denjenigen von *fuliginosa*. Da ich noch nicht den ganzen Chromosomencyklus kenne, soll über diese Form erst in einer späteren Mitteilung berichtet werden. So viel kann jetzt schon gesagt werden, daß *monacha* sehr wahrscheinlich Geschlechtschromosomen besitzt.

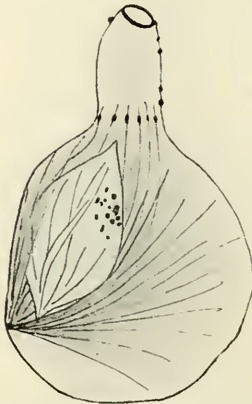
C. Allgemeiner Teil.

I. Die Chromatinelimination; ihre Verbreitung, Vergleich mit der Chromatindiminution, Bedeutung.

Henking glaubte bekanntlich die Mittelplatte, die er in der ersten Reifeteilung von *Pieris brassicae* vorfand, und deren Entstehung er zutreffend beschrieb, bei allen übrigen Insektenordnungen, die er untersuchte, wieder zu finden. Und zwar soll sie nach seinen Angaben nicht nur in der ersten Reifeteilung, sondern gelegentlich auch in der zweiten auftreten (*Agelastica*, *Pyrrhocoris*). Da Henkings Mittelplatte von *Pieris* identisch ist mit unsrer Eliminationsplatte, müßten Eliminationsvorgänge regelmäßig auftreten in den reifenden Eiern der Insekten; oder aber, Henking hat unter dem Namen Mittelplatte prinzipiell verschiedene Erscheinungen beschrieben. Ich glaube im ersten Teil meiner Arbeit durch genaue Beschreibung der Entstehung der Eliminationsplatte der Schmetterlinge klar gezeigt zu haben, daß diese unmöglich identisch sein kann mit der Mittelplatte, die bei tierischen und pflanzlichen Objekten weit verbreitet

ist, und deren Entstehung STRASBURGER (11) so beschreibt: »Während die Tochterchromosomen sich trennen, verbleiben die von Pol zu Pol reichenden Stützfasern der Kernspindel als Verbindungsfäden an Ort und Stelle. Ihre Zahl wird durch die Einschaltung neuer Verbindungsfäden vermehrt. . . . Jeder Verbindungsfaden schwillt alsbald in der Äquatorialebene stäbchenförmig an, wodurch die Zellplatte entsteht« (S. 77). Daß die Verdickungen in der Mitte der Spindelfasern nicht durch irgendwelche Materialzufuhr von den Chromosomen her hervorgerufen werden, zeigt die erste Spermatocytenteilung der Honigbiene recht drastisch (Textfig. 14). Der Kern wird während dieser Teilung weder geteilt noch aufgelöst. Außerhalb des Kernes legt sich im Plasma eine etwas unregelmäßige Spindel an, die am Grunde der kleinen Plasmaknospe, welche abgeschnürt wird, eine typische Mittelplatte bildet.

Textfig. 14.



Spermatocyte erster Ordnung der Honigbiene. Nach einer Abbildung von MEVES. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX. 1907. Tafel XXIII. Fig. 40.

Da nun HENKING seine Mittelplatte vergleicht mit der Mittelplatte pflanzlicher und tierischer Zellen und die Frage diskutiert, in wie weit die Zellplatte bei der Abgrenzung der neuen Zellen sich mitbeteiligt, kann kein Zweifel mehr darüber existieren, daß er den fundamentalen Unterschied, der zwischen Eliminationsplatte und Mittelplatte besteht, übersehen hat. Weil uns die Verbreitung der Eliminationsvorgänge interessiert, erwächst die Aufgabe zu überprüfen, wo die HENKINGsche Angabe, daß bei allen Insektenordnungen dieselbe Mittelplatte auftritt, wie bei *Pieris*, zutrifft, wo nicht. Dabei soll zugleich die übrige Literatur über Eireifung auf unsre Frage hin durchgesehen werden. Doch wollen wir uns auf die Insekten beschränken. Für die andern Tierklassen möge die Feststellung genügen, daß der Typus der Lepidoptereneireifung nirgends beschrieben wurde.

Diejenige Insektenordnung, deren Eireifung wir am besten kennen, sind die Hymenopteren. HENKING (92) untersuchte zwei Formen, *Lasius niger* und *Rhodites rosae*. Die Verhältnisse bei der letzteren Form sind nicht klar. Die folgenden Feststellungen beziehen sich nur auf *Lasius*. Für diese Form beweist HENKING in Wort und Bild klipp und klar, daß seine Behauptung nicht zutrifft. Die Mittelplatte besteht »aus nebeneinander gestellten Stäbchen, welche in jungen Spindeln verhältnismäßig

sehr lang sind (Fig. 281). Zu zählen sind diese nicht, jedoch habe ich den Eindruck, daß ihre Anzahl erheblich größer ist, als diejenige der Chromosomen . . . Sie erstrecken sich seitlich oft erheblich über die Reihen der Chromosomen hinaus« (S. 123). Unter den Abbildungen endlich sind mehrere frühe Anaphasen, welche zeigen, daß die Tochterchromosomen sich reinlich voneinander trennen, keine chromatischen Brücken vorhanden sind und von einem Abströmen von Chromatin von den Chromosomen gegen die Äquatorialebene zu nichts zu sehen ist. Was HENKING hier beschreibt, ist eine gewöhnliche Mittelplatte. Noch bleibt aber für uns die Möglichkeit offen, daß bei *Lasius* die Eliminationsplattenbildung sich unter etwas anderm Bilde vollzieht, als bei den Schmetterlingen, daß sie etwa nicht in der frühen, sondern erst in vorgerückter Anaphase einsetzt und dann verschleiert wird durch die Anwesenheit einer starken Mittelplatte. Man könnte den Satz: »An gut gefärbten Präparaten sieht man, daß einige Stäbchen stärker gefärbt sind als die übrigen« (S. 123) in diesem Sinne ausnützen; ferner die Tatsache, daß nur in der ersten Reifeteilung eine Mittelplatte gebildet wird und zwar eine äußerst mächtige. Doch wollen wir es späteren Beobachtungen überlassen, in dieser Angelegenheit zu entscheiden.

Nach SCHLEIP (08) sind die Verhältnisse bei *Formica sanguinea* gleich wie bei *Lasius*. Die Mittelplatte der ersten Reifeteilung ist äußerst mächtig und bildet ein »Kern«-artiges Gebilde, das bald verschwindet. Über die Entstehung der Mittelplatte berichtet SCHLEIP nichts. Auch besitzt er keine frühen Anaphasen, die für unsre Fragen hätten überprüft werden können. An der fertig gebildeten Mittelplatte läßt sich selbstverständlich nichts mehr entscheiden. Einzig die Entstehungsweise gibt darüber Auskunft, ob Eliminationsplatte oder Mittelplatte vorliegt.

Die einzige Hymenopterenarbeit, die die Mittelplatte von ihrer Entstehung an bis zum Verschwinden verfolgt, ist die NACHTSHEIMsche (13). »Für die erste Reifeteilung (der Honigbiene) sind die stark verdickten Fasern charakteristisch. . . . Die Zahl der Fasern ist jedenfalls größer als die der Chromosomen« (S. 185). Da bei Lepidopteren die Zahl der Eliminationschromosomen höchstens so groß ist, wie die der Chromosomen, eher kleiner, wird man geneigt sein, die verdickten Fasern der Honigbiene als Mittelplatte aufzufassen. Nun brauchen wir aber nur anzunehmen, daß ein Tochterchromosomenpaar durch mehrere Fasern verbunden ist, so ist die Zahlenschwierigkeit gehoben. Sehr verdächtig ist, daß die verdickten Fasern bei der Streckung der Spindeln anfangs nicht dünner werden, sondern im Gegenteil an Dicke zunehmen. Es darf angenommen werden, daß sie an Substanz zunehmen; die aber könnte von

den Chromosomen geliefert werden. Ebenfalls auffällig ist, daß wieder nur in einer Reifeteilung, nämlich in der ersten, eine starke Mittelplatte gebildet wird. Danach scheint es mir nicht unwahrscheinlich, daß bei der Honigbiene eliminiert wird. Jedoch bedarf es auch hier noch neuer Beobachtungen, um die Frage zu entscheiden. Silvestri (06, 08) und Doncaster (07, 10—11) berichten nichts über die uns interessierenden Fragen[1]).

Von Coleopteren untersuchte Henking eine größere Zahl von Formen. Uns interessieren hauptsächlich seine Beobachtungen an *Agelastica alni*. Über die erste Reifeteilung schreibt er: »An einigen der in Teilung begriffenen Elemente (Fig. 132, 124, 125) ist unverkennbar eine chromatische Verbindungsbrücke vorhanden und erinnert an das wichtige Verhalten der Chromatinsubstanz, welches ich bei *Pieris brassicae* von der Bildung des ersten Richtungskörperchens beschrieben habe« (S. 55, 1892). Ebenfalls ganz analog wie bei *Pieris* ist das Verhalten des Thelyids in den späteren Phasen der Eireifung. »Oft ist es an seiner Peripherie von einem Kranz gröberer und intensiver gefärbter Körnchen außen umgeben (Fig. 134, 137) und dadurch noch besonders ausgezeichnet« (S. 59). Trotzdem ein befriedigender Beweis nicht vorliegt, halte ich es für sehr wahrscheinlich, daß in der ersten Reifeteilung von *Agelastica alni* eliminiert wird; vielleicht auch bei *Doryphora* nach einer Angabe von Wheeler (89). Für *Agelastica* gibt Henking übrigens eine Umschreibung seines Begriffes »Thelyid«, die wörtlich für unsern Eliminationskern paßt, vorausgesetzt, daß hier Zell- und Eliminationsplatte identisch sind. »Ich stehe deshalb nicht an, von dem ersten Thelyid von *Agelastica* ebenfalls anzunehmen, daß es der Mittelzone der Kernspindeln, einschließlich der Zellplatte, entspricht« (S. 58, 1892). Wenn ich trotzdem den Begriff Thelyid nicht aufgenommen habe, so geschah es deshalb, weil er mit Vorstellungen verknüpft ist, die unhaltbar sind, und über die ich nicht referieren will, weil sie für unsere Fragen ohne Interesse sind, ferner deshalb, weil er recht vage gefaßt ist; bei *Pieris* soll das Thelyid zum Teil von dem Eiplasma gebildet werden. — Die zweite Reifeteilung von *Agelastica* soll dasselbe Thelyid besitzen wie die erste. Nach den Abbildungen zu schließen, besitzt sie aber nur eine gewöhnliche Mittelplatte. Da bei *Tenebrio molitor* zwischen den beiden Spindeln ein scharf umgrenztes Körperchen sehr

[1]) Dr. Nachtsheim hatte die Liebenswürdigkeit, auf eine Anfrage mir mitzuteilen, daß die Verhältnisse bei der Honigbiene zu ungünstig sind, um die Frage sicher zu entscheiden, ob eine Elimination stattfindet oder nicht, daß aber nach seinen Beobachtungen das Vorkommen einer Elimination möglich ist, die »verdickten Fasern« also auf ein Abfließen von Chromatin von den Chromosomen zurückzuführen wären.

lange bestehen bleibt, bis zur Bildung des weiblichen Vorkernes, die gewöhnlichen Mittelplattenreste aber ausnahmslos rasch sich auflösen, mag wohl auch bei dieser Form Elimination vorkommen.

Über die Gruppe der Orthopteren liegen in der Literatur keine brauchbaren Angaben, die sich auf unsre Fragen erstrecken, vor. Die Eireifung der Neuropteren scheint noch vollständig unbekannt zu sein.

Für die Hemipteren ergeben sich nach den vorliegenden Beobachtungen keinerlei Anhaltspunkte dafür, daß Elimination stattfinden würde. Nach Henking besitzt jede Reifeteilung eine schwache Mittelplatte. Die neueren Untersucher, Stevens (05, 06, 09), von Baehr (09), Morgan (08, 09, 12), Morrill (10) berichten gar nichts über die uns interessierenden Fragen. Auch bei Dipteren sprechen die vorliegenden Untersuchungen (Weismann [82], Blochmann [86], Henking [88, 92]) nicht für das Vorkommen einer Elimination.

Aus diesem Überblick über die Literatur, die sich mit der Eireifung der Insekten befaßt, ergibt sich, daß vorläufig noch nirgends Eliminationserscheinungen sicher nachgewiesen sind. Die Beobachtungen Henkings machen es aber höchst wahrscheinlich, daß auch bei Coleopteren in der ersten Reifeteilung eliminiert wird, möglicherweise auch bei Hymenopteren nach den Beobachtungen von Nachtsheim, und es will fast scheinen, als ob die Ursache der isolierten Stellung der Lepidopteren darin liegen würde, daß wir eben die Eireifung überhaupt nur noch äußerst lückenhaft kennen. Das ganze Interesse der Cytologen konzentrierte sich im letzten Jahrzehnt fast ausschließlich auf die Spermatogenese. Wäre zugleich immer die Ovogenese untersucht worden, so wären zweifellos unsre Kenntnisse mehr in die Tiefe, weniger in die Breite gewachsen, sicher wären z. B. die endlosen Debatten über die Reduktionsprobleme um ein Wesentliches kürzer geworden, und wir wären in diesen Fragen heute weiter, als wir tatsächlich sind. Weitaus den Hauptteil unsrer Kenntnisse über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten verdanken wir Henking. Seine groß angelegten Arbeiten sind in vielen Beziehungen mustergültig, und ich gestehe hier gerne, daß ich oft darüber gestaunt habe, wie viel Henking gesehen hat, trotz seiner primitiven Technik, die leider nicht einwandfrei ist und die Hauptschuld trägt, daß viele seiner Angaben revidiert werden müssen. —

Die Schilderung des Eliminationsprozesses wird unwillkürlich erinnert haben an die ganz ähnlich verlaufenden Diminutionsprozesse, die von Boveri (99) beschrieben wurden in seiner klassischen Arbeit über die Entwicklung von *Ascaris megalocephala*, ferner bei andern Ascariden nachgewiesen wurde von O. Meyer (95) und K. Bonnevie (01), und end-

lich bei einer Cecidomyidenlarve, *Miastor*, wiedergefunden wurden von Kahle (08). Die Analogie zwischen dem Verlauf des Eliminations- und Diminutionsprozesses ist so verblüffend, daß ich mir nicht versagen kann, einen Vergleich zu ziehen. Dazu ist notwendig, daß ich kurz die in Frage stehenden Vorgänge bei der Cecidomyidenlarve schildere; die viel bekannteren und viel besprochenen Verhältnisse von *Ascaris* kann ich als bekannt voraussetzen.

Die *Miastor*-Larven pflanzen sich durch mehrere Generationen parthenogenetisch fort (Pädogenese). Nach der Bildung eines Richtungskörpers finden zwei Furchungsteilungen statt. Eine der vier Blastomeren rückt nun gegen das polare, schon längst präformierte Keimplasma und teilt sich normal, wobei der eine Tochterkern ganz in das Keimplasma einwandert und durch sein späteres Verhalten sich als Urkeimzelle dokumentiert. Die Kerne der übrigen drei Blastomeren, die alle Somakerne sind, machen im dritten Teilungsschritte eine Diminution durch. Zu Beginn der Anaphase trennt sich von jedem Chromosom ein beträchtliches Stück ab und bleibt in der Äquatorialebene liegen, wenn die andern Teilstücke den Spindelpolen zuwandern. Was wir bei den Lepidopteren festgestellt haben, gilt nun auch hier: Die Quantität des ausgeschiedenen Chromatins ist bei verschiedenen Embryonen recht verschieden. »Man findet achtzellige Stadien mit sehr starken Chromatinresten neben andern, die auffällig viel geringere Reste aufweisen, und endlich sind mir zwei achtzellige Embryonen vorgekommen, in denen ich überhaupt keine Chromatinreste entdecken konnte.« Die Analogie geht noch weiter. »Ich habe in einem Fall (Fig. VII *b*) zwischen zwei diminuierten Kernen nur sechs Chromosomensegmente gezählt (die Chromosomenzahl ist 22!). In diesen und jedenfalls auch in andern Fällen kann demnach nur eine teilweise Diminution stattgefunden haben, indem nur wenige Chromosomen Segmente abstießen, während die übrigen in toto in die Tochterzellen übergingen.« Die Inkonstanz der Vorgänge zeigt sich auch im Verhalten der drei Somakerne unter sich. »Von 18 Embryonen wiesen 7 Stück je drei Haufen von Chromatinresten auf, während die übrigen 11 je zwei solcher Haufen besaßen; und zwar unterbleibt immer in der Spindel, die in der Nähe der Urkeimzelle liegt, die Diminution. Findet eine Diminution statt, so ist die ausgeschiedene Chromatinmenge sehr gering.« Nach Kahle soll bis zur nächsten Teilung eine Reduktion sich vollziehen, und die Teilung selbst soll Reduktionsteilung sein. Eine Reduktionsteilung könnte aber höchstens in der letzten oder ersten parthenogenetischen Generation stattfinden! Und zudem soll das geschehen in einer Furchungsteilung! Sehr wahrscheinlich haben wir es mit einer bloßen

Chromosomenkoppelung zu tun, wie eine solche ja auch bei *fuliginosa* vorübergehend auftritt. Bei *Miastor* wird sie erst in den Urovogonien rückgängig gemacht. In der vierten Furchungsteilung diminuieren alle sieben Somakerne und, was nun sehr überrascht, »in sämtlichen Somakernen in ganz übereinstimmender Weise«. Damit ist die Diminution vollendet.

Auch bei *Ascaris* zeigt sich diese Inkonstanz im Ablauf des Diminutionsprozesses, und bis in kleine Details haben wir Übereinstimmung mit den Eliminationsvorgängen bei Lepidopteren. Es kann »die Diminution an verschiedenen Chromosomen der gleichen Zelle, ja an beiden Enden eines und desselben Chromosoms zu verschiedenen Zeiten eintreten.« »Die Diminution und die damit Hand in Hand gehende Bildung der kleinen somatischen Chromosomen ist nicht an eine bestimmte Phase des Kernes geknüpft, sondern kann in verschiedenen Zuständen des Kernes eintreten.« Die Sätze sind fast wörtlich auf die Verhältnisse bei Lepidopteren anwendbar. In bezug auf die Quantität des ausgeschiedenen Diminutionschromatins herrscht aber bei *Ascaris* größte Gesetzmäßigkeit. Immer dieselben gleich großen Chromosomenenden werden in den Somakernen abgeworfen. Auf dieser Tatsache ruht das ganze, imponierende Gedankengebäude Boveris. Mit den Chromosomenenden wirft die Somazelle einen bestimmten und immer denselben »Anlagenkomplex«, der für sie unnötiger Ballast ist, über Bord und gibt damit ihre Totipotenz auf, während die Propagationszellen sie bewahren.

Nun steht aber gerade diese eine, ausschlaggebende Feststellung, daß immer dieselben Chromosomensegmente ausgestoßen werden, immer dieselbe Quantität Chromatin preisgegeben wird, bei den Cecidomyiden in Frage. Ich habe schon betont, wie sehr es verblüfft, daß der zweite Diminutionsprozeß in allen Somazellen übereinstimmend verläuft. Das Gegenteil hätte man erwarten sollen. Sollte er die Verschiedenheiten ausgleichen, die während der ersten Diminution geschaffen worden sind, so müßte etwa die Schwesterzelle der Urgeschlechtszelle, die überhaupt noch nicht diminuiert hat, am meisten Chromatin ausstoßen, die beiden Nachbarzellen etwas weniger, die übrigen Somazellen noch weniger bis nichts, oder es müßte doch zum mindesten ein erkennbarer Unterschied vorhanden sein zwischen der Quantität des Diminutionschromatins der verschiedenen Kerne. Denn während der ersten Diminution wird gelegentlich eine gewaltige Menge Chromatin ausgestoßen. Wenn Kahle trotzdem annimmt, daß der zweite Diminutionsprozeß ausgleichend wirkt, so ist das vorläufig nichts wie eine bloße Vermutung, für die einzig der Umstand spricht, daß nur so die Parallele zum *Ascaris*-Fall gerettet wird

und Boveris Interpretationen auch für die Cecidomyiden gelten können. Vergißt man aber einen Moment alle theoretischen Vorstellungen, die mit diesen Vorgängen verknüpft sind, so muß man zugeben, daß wenigstens vorläufig Kahles Beobachtungen dafür sprechen, daß die Quantität des ausgeschiedenen Chromatins recht verschieden ist. Sollte das aber wirklich zutreffen (bewiesen ist es selbstverständlich noch nicht), so müßten die von Boveri entwickelten Vorstellungen fallen, und die Vermutung läge nahe, daß zwischen den Eliminations- und Diminutionsvorgängen nicht nur große Analogie herrscht, sondern daß sie ihrer Natur nach verwandte, vielleicht identische Erscheinungen sind. Ich gestehe offen, daß ich lange Zeit davon überzeugt war und die Elimination als Diminution bezeichnet habe. Wenn ich davon vorläufig abgekommen bin, so geschah das deshalb, weil es 1. noch nicht sicher steht, daß bei Cecidomyiden die ausgestoßene Chromatinmenge variabel ist und 2., weil, wenn das auch der Fall sein sollte, doch noch große Verschiedenheiten vorhanden sind zwischen den in Frage stehenden Vorgängen bei Lepidopteren einerseits, Ascariden und Cecidomyiden anderseits. Die Hauptunterschiede wären die, daß im einen Fall in der Keimbahn diminuiert wird, im andern nicht, und daß die Diminution sich nur auf die Ovocytenchromosomen erstreckt im einen Fall, im andern auf beide Sortimente. Doch lägen wenigstens für den ersten Punkt (vielleicht auch für den zweiten; vgl. die Bemerkung S. 240) Beobachtungen vor, die das verschiedene Verhalten verständlich machen könnten. Aber es soll den Tatsachen nicht weiter vorgegriffen werden. Vielleicht sind wir jetzt schon in unsern Vermutungen zu weit gegangen, durch die Analogie verleitet, die zwischen dem Ablauf des Diminutions- und Eliminationsprozesses besteht. Vielleicht haben die ihrer Bedeutung nach miteinander nichts zu tun und verlaufen nur deshalb unter ähnlichem Bilde, weil möglicherweise in beiden Fällen der Kern vor dieselbe Aufgabe gestellt ist: Ein Quantum überflüssiges Chromatin auszustoßen, und er sie in gleicher Weise löst. Aus dem Gesagten aber ergibt sich, daß eine Nachuntersuchung der Cecidomyiden wichtige Folgen haben könnte.

Welches ist nun die Bedeutung der Chromatinelimination? Wir wissen es nicht! Alles was wir unternehmen können, um eine Lösung dieser Frage anzubahnen, ist, nachzusehen in welcher Richtung die Bedeutung zu suchen ist. Aber auch da kommen wir nicht weit. Gleich die erste und wichtigste Frage, die wir entscheiden sollten, muß offen bleiben; nämlich die Frage: Eliminieren nur die Ovocytenchromosomen, oder tun das auch die Spermatocytenchromosomen? Es kann nur so viel gesagt werden, daß auf keinem Stadium der Spermatogenese etwas ent-

deckt werden konnte, was sicher in Parallele hätte gebracht werden können zu der Elimination in der ersten Reifeteilung der Ovocyten. Man hätte etwa an ein Austreten von Chromidien während der Wachstumsphasen denken können. Es gelang aber nicht, solche nachzuweisen. Damit ist aber natürlich nicht gesagt, daß nicht doch in versteckter, schwer nachweisbarer Form ein ähnlicher Vorgang sich vollzieht (vgl. die Bemerkung S. 240).

Wir haben früher festgestellt, daß sehr wahrscheinlich die Äquatorialplatten der ersten Reifeteilung im Ei nicht die für die Art charakteristischen Chromosomengrößen zeigen, vielmehr besitzen sie ein Plus an Chromatin, das Eliminationschromatin, das in der Anaphase aus dem Kern ausgestoßen wird. Nun sind wohl in erster Linie folgende zwei Möglichkeiten zu erwägen:

1. Das Keimbläschen stößt Chromatin aus, das im Eiplasma eine wichtige Funktion zu übernehmen hat.

2. Es stößt Chromatin aus, das aus irgendeinem Grunde überflüssig ist.

Spielt das Eliminationschromatin bei der beginnenden Embryonalentwicklung eine wichtige Rolle? Es liegt nahe, einen Versuch zu machen mit den Vorstellungen, welche Goldschmidt (04) in seiner Trophochromatinhypothese entwickelt hat, zu arbeiten. Nehmen wir an, daß während der Eibildung ein Plus an Trophochromatin gebildet wird und daß in der ersten Reifeteilung nicht eine Scheidung von propagatorischem und somatischem Kern sich vollzieht, sondern einzig dieser Überschuß an Trophochromatin ausgestoßen wird. Er ist dazu bestimmt, bei der Bemeisterung der gewaltigen Dottermassen eine führende Rolle zu übernehmen. Durch diesen Versuch wären die so auffälligen Eliminationsvorgänge unserm Verständnis außerordentlich nahe gebracht. Zudem würde er in bester Übereinstimmung stehen mit Angaben aus der embryologischen Literatur über Insekten, die besagen, daß aus Embryonalkernen Chromatin austritt, sich zu einem bläschenförmigen Gebilde formt, zu einem Paracytoid (Heymons 95), das bei der Dotterverflüssigung eine wichtige Rolle spielt (vgl. auch bei Friederichs 06). Man könnte direkt die kleinen, kernartigen Gebilde, die wir bei *fuliginosa* vorfanden, (Fig. 59, 61), und die sicher aus dem Eliminationskern hervorgehen, als Paracytoide ansehen. Es muß aber gesagt werden, daß normalerweise der Eliminationskern spurlos verschwindet und direkt aus dem Eliminationschromatin sicher keine geformten Gebilde hervorgehen, daß die kleinen Chromatinbläschen von *fuliginosa* eher die letzten Phasen des degenerierenden Eliminationschromatins sind. Sie konnten in späteren Stadien nie mehr angetroffen werden. Zudem ergeben sich

noch andre, fast unüberwindliche Schwierigkeiten, die den Versuch, das Eliminationschromatin als Trophochromatin zu deuten, unwahrscheinlich machen. Von 100 Eiern mögen schätzungsweise 20 sehr viel Eliminationschromatin enthalten, 40 ein mittleres Quantum, 25 wenig, 10 sehr wenig und endlich 5 garnichts. Ist das Eliminationschromatin Trophochromatin, und spielt es eine führende Rolle bei der Dotterbewältigung, so dürfte man erwarten, daß diese Unterschiede in der ersten Entwicklung sich kund tun; etwa so, daß in Eiern ohne Eliminationschromatin die Entwicklung überhaupt unmöglich ist, daß sie in denjenigen mit sehr wenig Eliminationschromatin sehr verlangsamt ist usw. Nun liegen aber Beobachtungen, die in diesem Sinne zu verwenden wären, nicht vor. Aus gut befruchteten *dispar*-Gelegen schlüpfen wohl meist 100% Räupchen. Auch ließen sich im Entwicklungstempo keine Unterschiede feststellen, die den gewaltigen Unterschieden in der Quantität des Eliminationschromatins einigermaßen entsprechen könnten. Es erscheint uns somit als sehr wahrscheinlich, daß das ausgestoßene Chromatin bei der ersten Embryonalentwicklung entweder keine, oder doch nur eine unwesentliche Rolle spielt. Die Bedeutung der Elimination ist in andrer Richtung zu suchen.

Durch genaue Registrierung aller Beobachtungen während des Verlaufes der Elimination kamen wir zum Schlusse, daß die Elimination gleichsam von der vorhandenen Mitgift an Chromatin der Keimbläschen das zurückbehalten muß, was über ein normales, für die Art zukömmliches Mittel hinausgeht. Liegt vielleicht gerade in diesem regulatorischen Akt die Bedeutung der Eliminationsprozesse? Es scheint nicht unwahrscheinlich. Die Eizelle ist ja während ihres Riesenwachstums in offener Kommunikation mit den Nährzellen. Die Massenverhältnisse zwischen Kern und Plasma müssen konstantem Wechsel unterworfen sein, weil fortwährend neue Materialzufuhr stattfindet, die die Eizelle nicht überwachen kann. Einzelne Chromosomen wachsen unverhältnismäßig an. Es will scheinen, als ob ihr Wachstum ganz vom Zufall bestimmt würde. So ist leicht vorstellbar, daß nach dem definitiven Abschluß der Eizelle ein Ausgleich stattfinden muß. Den besorgt die Elimination. Sie sorgt dafür, daß das normale Massenverhältnis zwischen Kern und Plasma wieder hergestellt wird, und da zweifellos für ein bestimmtes Plasma nicht nur ein bestimmtes Quantum Chromatin, sondern auch ganz bestimmte Größenordnungen von Chromosomen charakteristisch sind, werden auch diese geregelt. Wir können ihre Bedeutung in die kurze Formel fassen: Durch die Elimination wird die Kernplasmarelation (Hertwig 03) in den reifenden Eiern reguliert.

Das ist alles, was wir vorläufig über die Bedeutung dieser interessanten Vorgänge sagen können. Es will weiter nichts sein als eine Vermutung. Ob sie zutrifft, mag die zukünftige Forschung zeigen.

II. Die Reduktionsprobleme.

Schreiner schrieb 1906: »Die Zeit ist nicht fern, wo das ‚Reduktionsproblem' vom morphologischen Gesichtspunkt aus als gelöst angesehen werden darf.« Inzwischen wurde viel diskutiert über die Reduktionsfragen, und, wie es scheint, hat man sich nun müde gestritten. Wesentlich weiter aber sind wir nicht. Die neuen Beobachtungen brachten wenig vorwärts. Einzig sind aus der Geschlechtschromosomenforschung einige wichtige Streiflichter auf die Reduktionsfragen gefallen. Es zeigte sich nämlich, daß unpaare Geschlechtschromosomen (*Protenor*-Typus) ausnahmslos nur in einer Reifeteilung geteilt werden, in der andern wandern sie ungeteilt an einen Spindelpol. Sind dagegen paarige Geschlechtschromosomen vorhanden (*Lygaeus*-Typus), so werden diese in beiden Reifeteilungen geteilt; in der einen werden die ungleichen Paarlinge, das x-Chromosom vom y-Chromosom getrennt, in der andern werden die nun univalenten Chromosomen halbiert. Da zudem die xy-Chromosomen durch die ganze Wachstumsperiode bis in die Reifeteilungen leicht verfolgt werden können, oft konjugieren sie ja erst sehr spät und legen sich nur lose aneinander, so steht für die Geschlechtschromosomen die Existenz einer Reduktionsteilung sicher. Dasselbe gilt auch für die m-Chromosomen. Für die Autosomen dagegen liegt ein vollgültiger Beweis noch nicht vor, und es ist wenig Hoffnung, daß je ein Idealobjekt gefunden wird, dessen Chromosomenindividuen von der Vermehrungsperiode an lückenlos verfolgt werden können durch die Phasen, wo die Paarung sich vollzieht und von da weiter durch die Wachstumsperioden und Tetradenstadien bis zu der Reifeteilung, die die Paarlinge wieder voneinander trennt.

Deshalb hat man sich auf neue Untersuchungsmethoden besonnen und es sind in letzter Zeit wiederholt aussichtsreiche Wege begangen worden, so von Federley in seiner *Pygaera*-Arbeit, die möglicherweise zum Ziele, zum mindesten sicher einen tüchtigen Schritt vorwärts führen werden. Federley verglich das Verhalten der Chromosomen in den Keimzellen der *Pygaera*-Bastarde mit dem Verhalten in den Keimzellen der Elternformen. Dabei zeigte sich, daß die ersten Abweichungen im Bastard in den jungen Spermatocyten auftreten. »Sie scheinen kein Synapsisstadium durchzumachen, denn in meinen Präparaten habe ich vergeblich nach der Synapsis gesucht. Ich erwähne diesen negativen

Befund, obgleich er an und für sich nichts beweist. . . . Bei der vollständig rätselhaften Natur der Synapsis schien mir dieser Umstand der Erwähnung wert, obgleich er selbstverständlich nicht beweisend für den Ausfall der Synapsis bei den *Pygaera*-Bastarden ist« (S. 36). Nun haben wir nachgewiesen, daß in der Synizesis (= Synapsis von FEDERLEY) die Pseudoreduktion sich vollzieht, sowohl in der Ovogenese, als auch in der Spermatogenese und übereinstimmend bei *fuliginosa*, *dispar* und *japonica*. FEDERLEY hat nun noch den experimentellen Beweis für unsre Angaben erbracht, denn in seinen Bastarden unterblieb die Pseudoreduktion; in den Reifeteilungen ist die diploide Chromosomenzahl vorhanden. Warum FEDERLEY die Synizesis nicht finden konnte, wird klar sein. Sie führt eben die Pseudoreduktion durch und ihre rätselhafte Natur dürfte damit wenigstens teilweise entschleiert sein. Nun wäre allerdings denkbar, daß in Bastarden ohne Pseudoreduktion doch eine Synizesis auftreten könnte. In diesem Fall hätten wir anzunehmen, daß die Chromosomen gleichsam eine Anstrengung machen zur Durchführung einer Pseudoreduktion, daß aber eine Affinität zwischen den elterlichen Chromosomen nicht vorhanden ist und die Vereinigung ausbleibt.

Wir haben früher die unbewiesene Annahme getroffen, daß in den diploiden Kernen ein doppeltes Chromosomensortiment vorhanden ist. Das kann für eine Art natürlich nur dann konstant sein, wenn zugleich die weiteren Hilfsannahmen getroffen werden, daß während der Synizesis immer je ein väterliches und ein mütterliches Chromosom der gleichen Qualität sich zu einem Paar vereinigen und diese homologen Paarlinge in einer von den beiden Reifeteilungen wieder voneinander getrennt werden. Trotzdem nach unsren heutigen Kenntnissen wohl kaum an der Richtigkeit der Hypothese MONTGOMERYS von der Konjugation homologer väterlicher und mütterlicher Chromosomen, die durch viele Beobachtungen gut fundiert ist, gezweifelt werden kann, muß doch zugegeben werden, daß speziell für die Lepidopteren noch keine Beobachtungen vorliegen, die beweisend wären. Doch fehlt es nicht an Beobachtungen, die es sehr wahrscheinlich machen, daß sie auch für die Lepidopteren Gültigkeit hat. FEDERLEY hat die wichtigste erbracht. Durch Kreuzung eines Bastardmännchens *Pygaera anachoreta* × *P. curtula*, dessen Spermatozoen 30 *anachoreta*- und 29 *curtula*-Chromosomen besitzen, mit einem *anachoreta*-Weibchen, welches 30 Chromosomen hat, erhält man einen sekundären Bastard, der in seinen Spermatocyten 59 Chromosomen aufweist. Darunter verrät an ihrer Größe etwa die Hälfte ihre Bivalenz, die andern, kleineren, sind univalent. Zweifellos haben die 30 *anachoreta*-Chromosomen des Bastardvaters mit den 30 *ana*-

choreta-Chromosomen der Bastardmutter konjugiert, während die 29 *curtula*-Chromosomen univalent geblieben sind. Da im primären Bastard keine Chromosomenkonjugation stattfindet, ist erwiesen, daß die Pseudoreduktion in der Vereinigung je eines väterlichen mit einem mütterlichen Chromosom besteht und keine Konjugation zwischen den einzelnen Individuen eines einfachen Sortimentes erfolgen kann. Genau denselben Beweis hat bekanntlich ROSENBERG (05, 09) mit seinen *Drosera*-Bastarden erbracht. Damit ist die Hypothese MONTGOMERYS schon halbwegs bewiesen. Wenn FEDERLEY aber glaubt, einen vollen Beweis erbracht zu haben, so muß er sich wohl täuschen. Es bleibt noch zu zeigen, daß nur homologe Chromosomen miteinander konjugieren; also das Chromosom *a* des väterlichen Sortiments nur mit dem Chromosom *a* des mütterlichen Sortiments, oder das auffällig kleine Chromosom *b* der väterlichen Garnitur nur mit dem eben so kleinen Chromosom *b* der mütterlichen. Damit ist ein Weg angedeutet, auf dem wir in unserm Beweis einen Schritt weiter kommen. Hier kann ich mit meinen eignen Beobachtungen einsetzen. Sprechen sie dafür, daß nur gleich große Chromosomen konjugieren? Ist das der Fall, so können wir zuversichtlich die weitere Hilfsannahme treffen, die auf morphologischem Wege nicht beweisbar ist, daß diese gleich großen Paarlinge auch der Qualität nach gleich sind.

Am überzeugendsten wäre unser Beweis wohl dann, wenn es gelingen würde, die Chromosomen der diploiden Kerne in Paare von steigender Größe anzuordnen, wie es z. B. bei *Brachystola* von SUTTON (02) und bei *Anasa* von WILSON (06) gemacht wurde. Leider aber ist das bei den von mir untersuchten Schmetterlingen unmöglich, weil die diploide Chromosomenzahl viel zu groß ist. Der Beweis wäre aber auch dann vollgültig, wenn es gelingen sollte zu zeigen, daß in den Spermatocyten und Ovocyten einer Art immer dieselben Größenordnungen von Chromosomen vorhanden sind. Diesen Beweis glaube ich im speziellen Teil meiner Arbeit sowohl für *fuliginosa* als auch für *dispar* und *japonica* erbracht zu haben. Man mag von all diesen Formen Spermatocytenäquatorialplatten der ersten und zweiten Reifeteilung untersuchen so viel man will, immer wieder erscheinen die typischen Chromosomengrößen. Oder vergleicht man im Ei von verschiedenen Individuen einer Art die Tochterplattenchromosomen der ersten Reifeteilung und die Äquatorialplattenchromosomen der zweiten Reifeteilung, so gelangt man zum selben Resultat. Auch konnte auf Seitenansichten von Spindeln der ersten und zweiten Reifeteilung nie eine Ungleichheit der Chromosomenhälften nachgewiesen werden, mit Ausnahme natürlich des Geschlechtschromosomenpaares von *fuliginosa*.

Wenn es gestattet ist, die Ergebnisse Federleys auf die von mir untersuchten Schmetterlinge zu übertragen, so dürfte, zusammen mit den mitgeteilten Beobachtungen an *dispar*, *japonica* und *fuliginosa*, ein Annäherungsbeweis für die Richtigkeit der Hypothese Montgomerys erbracht sein.

Zudem gelang es uns zu zeigen, daß eine von den beiden Reifeteilungen Reduktionsteilung sein muß. Die entscheidenden Beobachtungen für die Ovogenese sind die folgenden: 1. Es findet Parallelkonjugation statt; 2. beide Reifeteilungen sind Längsteilungen; 3. sie stehen senkrecht aufeinander. — Die beiden letzten Beobachtungen können nicht bezweifelt werden. Es ließe sich höchstens darüber streiten, ob Parallelkonjugation stattfindet oder nicht. Wer jedoch die Beobachtungen, die uns zu dieser Annahme geführt haben, unvoreingenommen prüft, kann kaum einen andern Entscheid fällen. Ein einziger Punkt läge vor, der im Sinne einer end-to-end-Konjugation ausgenutzt werden könnte. Das ist die Existenz der Querkerbe an den Reifungschromosomen im Ei. Diese könnte die Verklebungsstelle der end-to-end vereinigten Chromosomen sein.

Nun sind in der Literatur wiederholt ganz analoge Angaben aufgetaucht. Ich will nur eine heranziehen und zwar die, welche immer wieder ins Feld geführt wird, wenn es gilt, gegen die Reduktion vorzugehen. Es sind die Angaben Haeckers und einiger Schüler über die Eireifung der Copepoden. Wie die Lepidopteren, so besitzen auch diese als Ausgangspunkt für die Reifeteilungen eine Ditetrade. Auch hier sind beide Reifeteilungen Längsteilungen. Nach der Querkerbe wird nicht geteilt. Deshalb erscheint diese wieder in den ersten Furchungsstadien und verschwindet, wie bei Lepidopteren bald früher, bald später während der Embryonalentwicklung. Nach Haecker spricht nun die unverkennbare Querkerbe mit Entschiedenheit für eine end-to-end-Konjugation. Damit ist die Anwesenheit der Querkerbe verständlich gemacht. Es gelang aber weder Haecker noch seinen Schülern, auch nur eine Beobachtungstatsache zu erbringen, die diese Annahme aus dem Zustand einer bloßen Vermutung herausheben würde. Nicht einmal das Stadium, auf welchem die Pseudoreduktion durchgeführt wird, konnte ermittelt werden. Auch vertraten Lerat (05) und Chambers (12) für dieselben Copepoden Parallelkonjugation [die Copepodenliteratur siehe bei Matschek (10), dazu kommt noch Chambers (1912), "Egg Maturation Chromosomes and Spermatogenesis in Cyclops", Univ. of Toronto studies]. Ebensowenig ließen sich bei Lepidopteren Beobachtungstatsachen erbringen, die für eine end-to-end Konjugation sprechen würden. Diese

Annahme bleibt für beide Gruppen eine rein willkürliche. Sehen wir nun zu, was sie für Folgen hat.

Es ist ohne weiteres klar, daß, wenn end-to-end-Konjugation stattgefunden hat, beide Reifeteilungen Äquationsteilungen sein müssen und somit alle reifen Eier den vollen elterlichen Chromosomenbestand erhalten. Der liegt aber vor in Form von neuen Einheiten. Hat in der Synapsis das väterliche Chromosom a_1 mit dem mütterlichen Chromosom a_2 sich vereinigt, so besitzt an ihrer Stelle jedes reife Ei das neue Chromosom $\frac{(a_1 + a_2)}{4}$. Die Chromosomenindividuen sind demnach von Generation zu Generation verschieden; die Individualitätshypothese müssen wir aufgeben und, halten wir an der idioplasmatischen Natur der Chromosomen fest, so verstricken wir uns in eine Fülle von unlöslichen Widersprüchen, wenn wir versuchen, die Vererbungserscheinungen cytologisch zu interpretieren. Haecker (10) versucht zwar, auch ohne reduktionelle Verteilung der Chromosomen eine Anlagenspaltung cytologisch verständlich zu machen. Sein Versuch ist jedoch nicht überzeugend und zudem höchst überflüssig, denn wir sind in all diese Widersprüche einzig durch die willkürliche Annahme verstrickt worden, daß end-to-end-Konjugation stattfindet. Wenn wir sie ohne Zögern fallen lassen, so geschieht das aber nicht nur dieser Widersprüche wegen, vielmehr hauptsächlich deshalb, weil es für die Schmetterlinge ohne Zwang gelingt, eine Deutung für die Querkerbe, die allein zur Annahme von end-to-end-Konjugation geführt hat, zu finden, die befriedigt und zweifellos auch anwendbar ist auf die Copepoden.

Bei *fuliginosa* besitzen nicht nur die Autosomen Querkerben, sondern auch die Geschlechtschromosomen. Bei diesen aber kann man über die Bedeutung der Querkerben keinen Moment im Zweifel sein. Sie deuten die Grenzen der verschiedenen Elemente an, die sich in den Geschlechtschromosomen vereinigt haben. Diese sind »Sammelchromosomen« und bestehen, wie das die gelegentliche Aufsplitterung zeigt, im männlichen Geschlecht aus je vier Teilstücken, im weiblichen das x-Chromosom aus vier Teilstücken, das y-Chromosom sehr wahrscheinlich aus drei. Dementsprechend sind an den x-Chromosomen drei Querkerben wahrnehmbar. Es ist vollständig ausgeschlossen, daß man hier die Querkerben mit der Konjugation in Zusammenhang bringen kann. Auch beweist der direkte Augenschein, wenn es noch eines weiteren Beweises bedarf, daß keine end-to-end-Konjugation stattgefunden haben kann, sonst müßten die Geschlechtschromosomen sieben oder acht Segmente aufweisen; sie besitzen aber immer nur vier.

Nun ist die Autosomenquerkerbe zweifellos identisch den Querkerben der Geschlechtschromosomen, denn sie tauchen alle miteinander zur selben Zeit auf (vgl. die Nährzellentetraden S. 211), sind während der Reifeteilung im Ei am deutlichsten erkennbar, treten im männlichen Geschlecht entweder gar nicht in Erscheinung (*dispar*, *japonica*), oder nur vorübergehend (*fuliginosa*), sind aber immer in beiden Sortimenten der Furchungskerne vorhanden und verschwinden bald früher, bald später während der Embryonalentwicklung. In den Spermatogonien von *fuliginosa* (Textfig. 8 *e*) sind sie weder an den Geschlechtschromosomen noch Autosomen erkennbar.

Offenbar sind nicht nur die Geschlechtschromosomen »mehrwertig«, sondern auch die Autosomen. Diese sind bei allen untersuchten Formen »zweiwertig« (wenigstens die Großzahl derselben). Warum diese Mehrwertigkeit nur auf gewissen Stadien in Erscheinung tritt und selbst hier nur recht unregelmäßig (nach Braun [09] ist sie an Wintereiern von *Cyclops* schwer, an Sommereiern leicht erkennbar), kann ebenso wenig erklärt werden, wie die Tatsache, daß bei gewissen Tiergruppen (z. B. Hymenopteren) Chromosomenkoppelungen oder Aufsplitterung in kleinere Elemente nur auf ganz bestimmten Stadien erfolgt und die Individuen ein und derselben Art sich oft verschieden verhalten können. Zweifellos stehen diese Erscheinungen in engem Zusammenhang. Man kann das Erscheinen der Querkerbe auffassen als das Auftreten einer Tendenz zur Chromosomenaufsplitterung, die jedoch nicht durchgeführt wird, höchstens gelegentlich bei den Geschlechtschromosomen von *fuliginosa*, möglicherweise aber auch in Ausnahmefällen auf die Autosomen sich erstrecken kann. So besitze ich einen Embryo von *dispar* auf einem frühen Furchungsstadium mit sicher mehr wie 100 Chromosomen in seinen Äquatorialplatten; vermutlich sind zweimal die diploide Zahl, also 124 vorhanden.

Nun blieben noch die Fragen zu diskutieren: deutet das Auftreten der Querkerben darauf hin, daß eine Aufsplitterung der Chromosomen angebahnt wird, daß diese Schmetterlinge im Übergang begriffen sind von niederer Chromosomenzahl zu höherer? Oder, sind die Querkerben die letzten Anzeichen dafür, daß ein Prozeß in umgekehrter Richtung sich vollzogen hat? Da bei *monacha* genau dieselben Fragen auftauchen werden, soll mit der Beantwortung abgewartet werden, bis über diese Form berichtet wird.

III. Die Geschlechtschromosomenhypothese.

Vergleicht man die Resultate der cytologischen und experimentellen Erblichkeitsforschung miteinander, so zeigt sich, »daß die Ergebnisse

über die Geschichte des Chromatins genau das darbieten, was die Mendelschen Tatsachen von den hypothetischen Anlageträgern fordern« (Boveri). Diese Erkenntnis scheint sich, trotz des Heeres von Zweiflern, allmählich Bahn zu brechen. Sie war ein gewaltiger Stimulus für das cytologische Arbeiten, beeinflußte aber auch nicht minder günstig die experimentelle Richtung. Alle neueren Ergebnisse fügten sich harmonisch in das gemeinsame Bild; seine bestimmenden, großen Linien liegen zweifellos heute sicher. Der jüngste Sieg auf diesem Gebiete, den wir Goldschmidt und Morgan verdanken, ist eine mendelistische Interpretation der Geschlechtsvererbung, die sich sowohl mit den Tatsachen der experimentellen Forschung, als mit denjenigen der Chromosomenlehre verträgt.

Die Goldschmidtsche Beweisführung, die von seinen Kreuzungsergebnissen bei Schmetterlingen ausgeht, ruhte auf der Annahme, welche scheinbar im Gegensatz stand zu allen damaligen Kenntnissen über das Vorkommen von Geschlechtschromosomen, daß bei Lepidopteren das weibliche Geschlecht heterogametisch ist. Wie ich in der Einleitung ausgeführt habe, war es meine Aufgabe, diese Annahme auf ihre Richtigkeit zu prüfen. Die Probe ist positiv ausgefallen, und zwar zugunsten Goldschmidts. Das weibliche Geschlecht der Schmetterlinge ist tatsächlich heterogametisch. Das konnte vorläufig für eine Form, *Phragmatobia fuliginosa*, sicher nachgewiesen werden. Damit ist zugleich der erste sichere Nachweis von Heterogametie im weiblichen Geschlecht erbracht.[1])

---

[1]) Johannsen bezweifelt in der II. Aufl. seiner »Elemente der exakten Erblichkeitslehre« (13) meine Angaben: »bis jetzt sind nur in einer Gruppe (Seeigeln) die Weibchen als sicher heterogametisch, die Männchen als homogametisch gefunden. So angeblich bei gewissen Schmetterlingen; nach Seiler. Bei vielen Tieren — so gerade auch bei *Abraxas* nach Doncaster, was nicht gut mit Seiler stimmt — sowie bei den Pflanzen lassen sich aber keine solchen Unterschiede nachweisen« (S. 602). Zu der »Begründung« der Zweifel kann folgendes gesagt werden: 1.) Ob *Abraxas* ein Geschlechtschromosom hat oder nicht, ist vollständig belanglos für die Verhältnisse von *Fuliginosa*. Das wird jedermann zugeben, der die Geschlechtschromosomenliteratur auch nur ganz oberflächlich kennt. Und zudem 2.) ob *Abraxas* im weiblichen Geschlecht digametisch ist oder nicht, wissen wir nicht. Doncaster hat gezeigt, daß wahrscheinlich keine X-Chromosomen vorhanden sind. Weiter gehen seine Befunde nicht. Neuerdings berichtet er übrigens ganz kurz, daß in gewissen Rassen von *Abraxas* das Männchen 56 Chromosomen besitzt, das Weibchen 55, daß letzteres zweierlei Eier bildet, solche mit 28 Chromosomen und solche mit 27 (Chromosomes, Heredity and Sex. "The Quarterly Journ. of Microsc. Science". Vol. LIX. Febr. 1914). — Im übrigen wird bekannt sein, daß Baltzer (13) seine früheren Angaben (09) über Heterogametie im weiblichen Geschlecht einiger Echiniden korrigiert hat und sich Tennent (11, 12) anschließt, der für die Seeigel Digametie im männlichen Geschlecht nachwies.

Nun war es natürlich eine brennende Frage zu erfahren, was bei parthenogenetischer Entwicklung von Schmetterlingseiern entstehen würde. Da bis in die neueste Zeit Angaben über Entwicklung unbefruchteter Eier auftauchten, war Hoffnung vorhanden, sie zu lösen. Interessant für uns ist, daß übereinstimmend gemeldet wird, daß bei Parthenogenese Männchen und Weibchen entstehen, also gerade das, was wir theoretisch erwarten müssen, wenn die neuen Geschlechtsformeln (Goldschmidt-Correns [13] S. 120 u. folg., vgl. auch die instruktiven Schemata S. 121/122) stimmen. Mein Versuch, auch in dieser Frage einen Entscheid herbeizuführen, mißlang, wie ich schon mitgeteilt habe. In den 110 unbefruchteten *dispar*-Gelegen, die ich besaß, fand keine parthenogenetische Entwicklung statt. Nun galt gerade *dispar* als Form, die unbefruchtet sich entwickeln kann! Ich zweifle deshalb an dieser und analogen Angaben. Doch soll die Frage weiter verfolgt werden. Hoffentlich wird sie auch von andrer Seite in Angriff genommen.

Es seien schließlich noch die Beobachtungen über die Geschlechtschromosomen von *fuliginosa*, die in bester Harmonie stehen zu der McClung-Wilsonschen Geschlechtschromosomenhypothese, durchgesehen im Hinblick auf die Kritik, die diese Hypothese in der letzten Zeit erfahren hat. Dabei wollen wir uns beschränken auf die Einwände, die das Tatsachenmaterial, das ihr zugrunde liegt, bezweifeln.

Die kleine Gruppe von Cytologen, die an der Zuverlässigkeit der morphologischen Basis der McClung-Wilsonschen Hypothese zweifeln, schart sich um den Namen Gross. Letzterer schreibt in seiner umfangreichen Kritik (12): »Geleitet von einigen Gesichtspunkten, die ich bei der Untersuchung von *Syromastes* und *Pyrrhocoris* gewonnen hatte, habe ich aus dem Studium der Literatur den Eindruck erhalten, daß die scheinbar so sichere cytologische Basis von Wilsons Theorie höchst unzuverlässig ist. Ja, man kann mit gutem Grunde sagen, sie existiert eigentlich gar nicht.« Die entscheidenden Beobachtungen von Gross und die leitenden Gesichtspunkte sind kurz die folgenden: Es werden zweierlei Spermatozoen gebildet, solche mit Heterochromosom und solche ohne dasselbe. Die Chromosomenzahl in den männlichen und weiblichen Keimzellen ist gleich. Deshalb folgt gebieterisch, daß nur eine Sorte von Spermatozoen befruchten kann, und das ist die mit dem Heterochromosom. Die andre Hälfte geht zugrunde. Nun verkleben im männlichen Organismus während der Synapsis zwei Chromosomen zum bivalenten, nur scheinbar univalenten Heterochromosom. Das wird inaktiviert, bleibt durch die ganze Wachstumsperiode kompakt, wächst nicht heran wie die übrigen Chromosomen und wird nur in einer Reifeteilung geteilt.

So entstehen wieder zweierlei Spermatozoen. Im weiblichen Organismus verhält sich das früher bivalente Heterochromosom wie ein gewöhnliches univalentes Autosom. Ich habe schon mitgeteilt, daß WILSON die Befunde von GROSS an *Syromastes* nicht bestätigen konnte und gerade in dem wesentlichsten Punkte nicht. Nach WILSON besitzen die Ovogonien eine größere Chromosomenzahl als die Spermatogonien, und zwar gerade die, welche nach der Theorie WILSONS vorhanden sein muß. GROSS erklärt (12), gestützt auf seine alten Beobachtungen, die Resultate WILSONS als falsch und verallgemeinert seine Ergebnisse, geleitet von den an *Syromastes* gewonnenen Gesichtspunkten, auf die ganze Klasse der Insekten. Nun aber war in so und sovielen Fällen nachgewiesen worden, daß da, wo ein Heterochromosom vorhanden ist, die Chromosomenzahl in den Spermatogonien um eins kleiner ist, als die der Ovogonien. Diese Beobachtungen sind nach GROSS entweder falsch, wie diejenigen von WILSON, oder sie sind einfach so zu erklären, daß eben in diesen Fällen die Verklebung des Chromosomenpaares zum Heterochromosom schon in den Spermatogonien sich vollzogen hat. Damit steht in bester Übereinstimmung, daß in den Spermatogonien von *Hydrometra* nach WILKE das x-Element auffällig groß ist. Die andern Fälle, wo diese letztere Tatsache nicht zutrifft, übergeht GROSS.

Nun hatte MORRILL (10) das experimentum crucis für die Zuverlässigkeit der morphologischen Basis der McCLUNG-WILSONschen Geschlechtschromosomenhypothese ausgeführt. Er untersuchte die Eireifung, Befruchtung und Furchung von vier Wanzen, die x-Chromosomen besitzen und stellte fest, daß nur eine Sorte von Eiern gebildet wird. Sie besitzen, ein Chromosomensortiment, das genau dem der weibchenbestimmenden Spermatozoen gleicht. Nach der Befruchtung zeigt sich nun, daß zweierlei Embryonen vorhanden sind. So besitzt z. B. *Archimerus alternatus* solche mit 15 Chromosomen — genau dieselbe Zahl, die man in den Spermatogonien antrifft — und solche mit 16 — dieselbe Chromosomenzahl, die die Ovogonien aufweisen. Damit ist die Angelegenheit ja eigentlich entschieden. GROSS allerdings wendet ein, daß in diesem Fall noch nicht erwiesen sei, daß die Embryonen mit 15 Chromosomen wirklich zu Männchen, und die mit 16 Chromosomen wirklich zu Weibchen sich entwickeln. — Man wird bei all dem an den Satz erinnert: — die Tatsachen stimmen nicht mit der Theorie überein: — Um so schlimmer für die Tatsachen! —

Nun ist zum Glück in *Ancyracanthus cystidicola* schon 1911 von MULSOW ein Idealobjekt gefunden worden, an dem man handgreiflich demonstrieren kann, daß eine cytologische Basis für die Geschlechts-

chromosomenhypothese von Gross nicht existiert. Bei *Ancyracanthus* bleiben die Chromosomen im Spermatozoon immer sichtbar, und es gelingt, direkt nachzuweisen, daß beide Sorten von Spermatozoen ins Ei eindringen und befruchten und daß dementsprechend, in bezug auf ihren Chromosomenbestand, zweierlei Embryonen resultieren.

Vollkommen hilflos war Gross mit seiner Hypothese den Idiochromosomen (xy-Typus) gegenüber. Am wahrscheinlichsten scheint ihm, daß auch hier nur die eine Hälfte der Spermatozoen funktionsfähig ist. Übertragen wir das auf die Verhältnisse bei Lepidopteren, so müßte hier nur eine Sorte von Eiern, und zwar die mit dem x-Chromosom sich entwickeln, die andre Hälfte zugrunde gehen. Davon kann aber keine Rede sein. Das kann direkt und indirekt gezeigt werden.

Nun soll nicht verkannt werden, daß die Kritik von Gross nicht durchweg unbrauchbar ist. Sie hat vor allem gezeigt, wie erschrecklich und beschämend wenig wir das Verhalten der Geschlechtschromosomen im monogameten Geschlecht kennen. Nicht einmal das Verhalten im digameten ist uns befriedigend bekannt. Bei der Großzahl der Formen, bei denen Geschlechtschromosomen nachgewiesen wurden, begnügten sich die Autoren, die Spermatocytenteilungen zu verfolgen. Höchstens geben sie noch irgend ein Stadium der Wachstumsperiode wieder und weisen darauf hin, daß der vorhandene Nucleolus zweifellos als kompaktes Geschlechtschromosom anzusehen sei! Der Vorwurf trifft namentlich amerikanische Autoren.

Trotz dieser wichtigen Lücken in unsern Kenntnissen kann aber gesagt werden, daß so viel heute feststeht, daß an der Zuverlässigkeit der morphologischen Basis der McClung-Wilsonschen Geschlechtschromosomenhypothese nicht mehr gezweifelt werden kann. Zweifeln kann man einzig noch über die verschiedene Bedeutung, die man den Geschlechtschromosomen zugeschrieben hat. Darüber wissen wir vorläufig noch nichts Sicheres. Hier ist noch ein reiches und dankbares Arbeitsfeld für zukünftige Forschung offen.

Literaturverzeichnis.

v. Baehr. 1908. Über die Bildung von Sexualzellen bei Aphidae. Zool. Anz. Bd. XXXIII.

—— 1909. Die Ovogenese bei einigen viviparen Aphididen und die Spermatogenese von Aphis saliceti. Arch. f. Zellforsch. Bd. III.

Baltzer, F. 1909. Die Chromosomen von Strongylocentrotus lividus und Echinus microtuberculatus. Arch. f. Zellf. Bd. II.

—— 1913. Über die Herkunft der Idiochromosomen bei Seeigeln. Sitzber. d. phys.-med. Ges. Würzburg.

Blochmann, F. 1886. Über die Richtungskörper bei Insekteneiern. Morph. Jahrb. Bd. XII.

Bobretzky. 1878. Über die Bildung des Blastoderms bei Insekten. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XXXI.

Bonnevie, K. 1901. Über Chromatindiminution bei Nematoden. Jen. Zeitschr. Bd. XXXVI.

Boring, A. 1909. A small chromosome in Ascaris megalocephala. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV.

Boveri, Th. V. 1899. Die Entwicklung von Ascaris megalocephala. Festschrift für Kupffer.

—— 1909. Über Geschlechtschromosomen bei Nematoden. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV.

—— 1911. Über das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Hermaphroditismus. Beobachtungen an Rhabditis nigrovenosa. Sitzber. phys.-med. Ges. Würzburg.

Brammertz, W. 1913. Morphologie des Glykogens während der Eibildung und Entwicklung von Wirbellosen. Arch. f. Zellforsch. Bd. XI.

Browne, Ethel. 1913. A study of the male germ cells in Notonecta. Journ. of experm. Zool. Vol. XIV.

Cook, Margaret Harris. 1910. Spermatogenesis in Lepidoptera. Proc. of the Acad. of Nat. Science of Philadelphia. Vol. LXII.

Dederer, Pauline H. 1907. Spermatogenesis in Philosamia cynthia. Biol. Bull. Vol. XIII.

Dederer, Pauline H. 1912. Preliminary Note on Gametogenesis in Philosamia cynthia. Ibid. Vol. XXIII.

Doncaster, L. 1907. Gametogenesis and fertilisation in Nematus ribesii. Quart. Journ. mic Sc. Vol. LI.

—— 1910—11. Gametogenesis of the Gallfly, Neuroterus lenticularis (Spathegaster baccarum). Parts I and II. Proc. Roy. Soc. B. Vol. LXXXII and LXXXIII.

—— 1910. Note on the spermatogenesis of Abraxas grossulariata (currant moth). Proceed. of the Cambridge Phil. Soc. Vol. XV.

—— 1911. Some Stages in the Spermatogenesis of Abraxas grossulariata and its Variety lacticolor. Journ. of Genetics. Vol. I.

—— 1912. Note on the Chromosomes in Oogenesis and Spermatogenesis of the White Butterfly Pieris brassicae. Proc. Cambridge Phil. Soc. Vol. XXVI.

Edwards, C. L. 1910. The idiochromosomes in Ascaris megalocephala and Ascaris lumbricoides. Arch. f. Zellforsch. Bd. V.

Federley, H. 1913. Das Verhalten der Chromosomen bei der Spermatogenese der Schmetterlinge Pygaera anachoreta, curtula und pigra, sowie einiger ihrer Bastarde usw. Zeitschr. f. indukt. Abst. u. Vererb. Bd. IX.

Fick, R. 1907. Vererbungsfragen, Reduktions- und Chromosomenhypothesen, Bastardregeln. Merkel u. Bonnets Ergebn. Bd. XVI.

Friederichs, K. 1906. Untersuchungen über die Entstehung der Keimblätter. Nova Acta. Bd. 85.

Gelei, J. 1913. Über die Ovogenese von Dendrocoelum. Arch. f. Zellforsch. Bd. XI.

Giardina, A. 1901. Origine dell'oocite e delle cellule nutrici nel Dytiscus. Intern. Monats. f. Anat. und Phys. Bd. XVIII.

Goldschmidt, R. 1904. Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebezellen. Zool. Jahrb., Abt. Anat. Bd. XXI.

—— 1912. Erblichkeitsstudien an Schmetterlingen. I. 1. Untersuchung über die Vererbung der sekundären Geschlechtscharaktere und des Geschlechts. Zeitschrift ind. Abst. Vererbungsl. Bd. VII.

—— 1913. Einführung in die Vererbungswissenschaft. Leipzig.

—— 1913. (Correns-Goldschmidt.) Die Vererbung und Bestimmung des Geschlechtes. Berlin.

Gross, J. 1904. Die Spermatogenese von Syromastes marginatus L. Zool. Jahrb. Bd. XX.

—— 1906. Die Spermatogenese von Phyrrhocoris apterus L. Zool. Jahrb. Bd. XXII.

—— 1912. Heterochromosomen und Geschlechtsbestimmung bei Insekten. Zool. Jahrb., Abt. Anat. Bd. XXXII.

Grünberg, Karl. 1903. Untersuchungen über die Keim- und Nährzellen in den Hoden und Ovarien der Lepidopteren. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIV.

Günthert, Th. 1910. Die Eibildung der Dytisciden. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXX.

Gulick, A. 1911. Über die Geschlechtschromosomen bei einigen Nematoden nebst Bemerkungen über die Bedeutung dieser Chromosomen. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI.

Häcker, V. 1907. Die Chromosomen als angenommene Träger der Vererbung. Erg. und Fortschr. d. Zool. Bd. I.

—— 1910. Ergebnisse und Ausblicke der Keimzellenforschung. Zeitschr. f. indukt. Abst. und Vererbg. Bd. III.

Heymons. 1895. Die Embryonenentwicklung von Dermapteren und Orthopteren. Jena 58.

Henking, H. 1888. Die ersten Entwicklungsvorgänge im Fliegenei. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XLVI.

—— 1890. Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten. I. Das Ei von Pieris brassicae L. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XLIX.

—— 1890. Über die Befruchtung der Eier von Agelastica alni. Nachr. der k. Ges. d. Wissensch. Göttingen.

—— 1891. II. Spermatogenese und deren Beziehung zur Eientwicklung bei Pyrrhocoris apterus. L. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LI.

—— 1892. Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LIV.

Hertwig, R. 1903. Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. Lehmann, München.

Hertwig, R. 1903. Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Centralbl. Bd. XXIII.

—— 1913. Lehrbuch der Zoologie. Jena.

Jörgensen, M. 1910. Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockeies von Proteus anguineus. Festschr. f. R. Hertwig. Bd. I.

Kahle, W. 1908. Paedogenesis bei Cecidomyiden. Zoologica. Leipzig.

Kemnitz, A. v. 1913. Eibildung, Eireifung, Samenreifung und Befruchtung von Brachycoelium salamandrae. Arch. f. Zellforsch. Bd. X.

Krüger, Eva. 1912. Phylog. Entwickl. der Keimzellenbildung eines freilebenden Rhabditis. Zool. Anz.

Matschek, H. 1910. Über Eireifung und Eiablage bei Copepoden. Arch. f. Zellforsch. Bd. V.

McClung. 1905. The chromosome complex of orthopteran spermatocytes. Biol. Bull. Vol. IX.

Meves, Fr. 1907. Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene (Apis mellifica L.), nebst Bemerkungen über Chromatinreduktion. Arch. mikr. Anat. Entwicklungsgesch. Bd. LXX.

Meyer, O. 1895. Celluläre Untersuchungen an Nematodeneiern. Jen. Zeitschr.

Morgan, Th. 1908. Sex determination in Phyllox. and Aphids. Science.

—— 1909. A biological and cytological study of sex determination in Phylloxerans and Aphids. Journ. experm. Zool. Vol. VII.

—— 1912. The elimination of the sex chromosomes from the male producing eggs of phyllox. Journ. Experm. Zool. Vol. XII.

Morrill. 1910. The chromosomes in the oogenesis, fertilization . . . of Coreid Hemipteren. Biol. Bull. Vol. XIX.

Mulsow, K. 1911. Chromosomenverhältnisse bei Ancyracanthus cystidicola. Zool. Anz. Bd. XXXVIII.

—— 1912. Der Chromosomencyclus bei Ancyracanthus cystidicola Rud. Arch. f. Zellforsch. Bd. IX.

Munson, John P. 1907. Spermatogenesis of the Butterfly, Papilio rutulus. Proc. of the Boston Soc. of Nat. Hist. Vol. XXXIII.

Nachtsheim, H. 1913. Cytologische Studien über die Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene. Arch. f. Zellforsch. Bd. XI.

Payne. 1909. Some new types of chromosome distribution and their relation to sex. Biol. Bull. Vol. XVI.

—— 1910. The chromosomes of Acholla multispionsa. Ibid. Vol. XVIII.

Petrunkewitsch, A. 1901. Die Richtungskörper und ihr Schicksal im befruchteten und unbefruchteten Bienenei. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XIV.

—— 1903. Das Schicksal der Richtungskörper im Drohnenei. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XVII.

Platner, G. 1888. Die erste Entwicklung befruchteter und parthenogenetischer Eier von Liparis dispar. Biol. Centralbl. Bd. VIII.

Rosenberg, O. 1905. Zur Kenntnis der Reduktionsteilung in Pflanzen. Botaniska Notiser.

—— 1909. Cytologische und morphologische Studien an Drosera longifolia × rotundilofia. Kungl. Svenska Vetens-Kaps. akad. Handl. Bd. XLIII. 15.

Rückert, J. 1910. Über Polyspermie. Anat. Anz. Bd. XXXVII.

Schleip, W. 1908. Die Richtungskörperbildung im Ei von Formica sanguinea. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXVI.

—— 1909. Die Reifung des Eies von Rhodites rosae L. und einige allgemeine Bemerkungen über die Chromosomen bei parthenogenetischer Fortpflanzung. Zool. Anz. Bd. XXXV.

—— 1911. Über die Chromatinverhältnisse bei Angiostomium. Ber. natur. Ges. Freiburg i. Br. Vol. XIX und Arch. f. Zellforsch. Bd. VII.

—— 1912. Geschlechtsbestimmende Ursachen im Tierreich. Erg. Fortschr. Zool. Bd. III.

Schreiner, A. 1906. Reifung der männlichen Geschlechtszellen bei Tromopteris. Arch. Biol. Bd. XXII.

Schwangart, F. 1904. Studien zur Entodermfrage bei den Lepidopteren. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXVI. 2.

Seiler, J. 1913. Das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Lepidopteren. Zool. Anz. Bd. XLI.

Silvestri, F. 1906, 08. Contribuzioni alla conoscenza biologica degli Imenotteri parassiti. I. Biologia del Litomastix truncatellus (Dalm.). II. Sviluppo dell'Ageniaspis fuscicollis (Dalm.). III. Sviluppo dell'Encyrtus aphidivorus Mayr. IV. Sviluppo dell'Oophthora semblidis Aur. doll. Scuola sup. Agric. Portici. Vol. I e III.

Stevens, N. M. 1905—06. Studies in Spermatogenesis. Part. 1 and II. Carnegie Instit. Public. Nr. 36.

—— 1906. Study of germ. cells of Aphids. Carnegie Instit. Public. No. 51.

—— 1908. A study on the germ cells of certain Diptera. Journ. of experim. Zool. Vol. V.

—— 1909. An unpaired Chromosome in the Aphids. Journ. of experim. Zool. Vol. II.

Strasburger, Eduard. 1906. Typische und allotypische Kernteilung. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLII.

—— 1907. Über die Individualität der Chromosomen und die Pfropfhybriden-Frage. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLIV.

—— 1911. Lehrbuch der Botanik. 11. Aufl.

Sutton, Walter S. 1902. On the Morphology of the Chromosome Group in Brachystola magna. Biol. Bull. Vol. IV.

Tennent, D. H. 1911. A heterochromosome of male origin in Echinoids. Biol. Bull. Vol. XXI.

—— 1912. The behavior of the chromosomes in cross fertilized Echinoid eggs. Journ. Morph. Vol. XXIII.

Vejdovsky, F. 1907. Neue Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung. Kgl. Böhm. Ges. d. Wiss. Prag.

Weismann, A. 1882. Beiträge zur Kenntnis der ersten Entwicklungsvorgänge im Insektenei. Festschrift für J. Henle, Bonn.

Wheeler, M. 1889. The Embryology of Blatta germanica and Doryphora. Journ. of Morph. Vol. III.

Wilson, B. 1906. Studies on Chromosomes III. Journ. of experm. Zool. Vol. III.

—— 1909. The female chromosome groups in Syromastes and Pyrrhocoris. Biol. Bull. Vol. X.

Wilson, B. 1911. Studies VII. A Review of the Chromosomes of Nezara. Journn. of Morphol. Vol. XXII.

—— 1912. Studies VIII. Observation on the Maturation Phenomena in certain Hemiptera. Journ. of Experim. Zool. Vol. XIII.

Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren wurden mit einem Zeiss Apochr. 2 mm, n. A. 1,4 unter Benutzung eines Abbeschen Zeichenapparates entworfen, das Zeichenblatt 12,5 cm unter dem Objekttisch. Die Tubuslänge ist in Fig. 1—61 gleich 160 mm, in Fig. 62—71 nur 140 mm. Die benutzten Oculare sind bei jeder Figur oder Tafel besonders angegeben. — Die Dotterkugeln sind überall nur schematisch angegeben; meist sind sie plasmatisch gefärbt, nur gelegentlich mit Eisenhämatoxylin. Wenn die Bilder aus zwei Schnitten kombiniert sind, ist es besonders angegeben.

Tafel V.

Alle Figuren beziehen sich auf die Eireifung von *Phragmatobia fuliginosa*.

Fig. 1. Metaphase der ersten Reifeteilung. Die Spindel steht parallel zur Eioberfläche. Oc. 6.

Fig. 2. Äquatorialplatte der ersten Reifeteilung. Oc. 6.

Fig. 3. Frühe Anaphase. Elimination im Gange. Die Spindel steht parallel zur Eioberfläche. Oc. 6.

Fig. 4. Anaphase der ersten Reifeteilung. Einige Chromosomen geben noch Eliminationschromatin ab. Oc. 6.

Fig. 5. Telophase der zweiten Reifeteilung im Richtungskörper. Vielleicht mit Eliminationschromosomen. Oc. 6.

Fig. 6. Anaphase der ersten Reifeteilung mit wenig Eliminationschromatin. Oc. 6.

Fig. 7. Anaphase der ersten Reifeteilung. Elimination noch nicht vollendet. Oc. 6.

Fig. 8. Interkinese. Sehr wenig Eliminationschromatin. Oc. 6.

Fig. 9. Späte Anaphase der ersten Reifeteilung. Von der inneren Spindelhälfte ist nur wenig auf diesem Schnitt. Oc. 6.

Fig. 10. Interkinese, während der Bindung, im Richtungskörper. Oc. 8.

Fig. 11. Interkinese, während der Bindung, im weiblichen Pronucleus. Oc. 8.

Fig. 12. Interkinese mit verspäteter Abgabe von Eliminationschromatin. Oc. 6.

Fig. 13. Anaphase der zweiten Reifeteilung. Äußere Spindel, Eliminationskern und innere Spindel sind je auf einem Schnitt. Oc. 6.

Fig. 14. Zweite Reifeteilung, innere Spindel in Telophase, die äußere in der späten Anaphase, vielleicht mit Eliminationschromosomen. Aus zwei Schnitten. Oc. 6.

Fig. 15. Übergang von Interkinese zur Prophase der zweiten Reifeteilung. Oc. 4.

Tafel VI.

Die Fig. 16, 17, 24, 28, 29, 36, 38, 41 beziehen sich auf *Orgyia antiqua*, Fig. 20 auf *Lymantria monacha*; alle übrigen auf *L. dispar*. Fig. 17 ist mit Oc. 8, alle andern mit Oc. 6 gezeichnet.

Fig. 16. Prophase zur ersten Reifeteilung. Die Konturen des Keimbläschens sind noch deutlich zu erkennen. Die Chromosomen stehen in der Äquatorialebene und sind schon geteilt.

Fig. 17. Prophase zur ersten Reifeteilung. Polansicht. Chromosomen noch in schleifenförmigen Verbänden. Die Umrisse des Keimbläschens noch erkennbar.

Fig. 18. Beginn der Anaphase der ersten Reifeteilung.

Fig. 19—22, 24. Aufeinanderfolgende Stadien des Eliminationsvorganges.

Fig. 23. Endstadium der Elimination.

Fig. 25. Anaphase mit zweiteiligen Eliminationschromosomen.

Fig. 26. Anaphase; das Eliminationschromatin ist zusammengeflossen.

Fig. 27, 28. Anaphase.

Fig. 29. Anaphase, Spindel schief angeschnitten.

Fig. 30—32. Späte Anaphasen der ersten Reifeteilung, mit wenigen oder ohne Eliminationschromosomen.

Fig. 33. Interkinese.

Fig. 34. Metaphase der zweiten Reifeteilung.

Fig. 35. Anaphase der zweiten Reifeteilung.

Fig. 36. Prophase zur zweiten Reifeteilung.

Fig. 37. Äquatorialplatte der zweiten Reifeteilung.

Fig. 38. Zweite Reifeteilung, äußere Spindel in Metaphase, innere in Anaphase mit einigen Eliminationschromosomen.

Fig. 39. Telophase der zweiten Reifeteilung mit Eliminationskern.

Fig. 40. Beginn der Interkinese.

Fig. 41. Das Eliminationschromatin in Teilung.

Tafel VII.

Die Fig. 43—61 sind mit Oc. 6, Fig. 42 mit Oc. 4, Fig. 62—71 mit Oc. 18 (Tubus 140 mm) gezeichnet.

Fig. 42. Vier Spermatozoen im Keimhautblastem von *L. dispar* zu Beginn der Anaphase. Drei davon degenerieren.

Fig. 43. Spermatozoon mit Centriol und Strahlung von *fuliginosa.*

Fig. 44. Beginn der Kontraktion des Spermatozoons mit Spermaplasma, während der späteren Anaphase von *dispar.*

Fig. 45. Auftreten der Spiralstruktur der Spermatozoen während der Interkinese von *dispar.*

Fig. 46. Letztes Stadium der Kontraktion der Spermatozoen. Metaphase der zweiten Reifeteilung.

Fig. 47, 48. Vorzeitige Auflockerung des Chromatins im Spermatozoon von *L. monacha.* Metaphase der zweiten Reifeteilung.

Fig. 49. Dasselbe von *fuliginosa.*

Fig. 50. Auflockerung des Chromatins im Spermatozoon in der Telophase der zweiten Reifeteilung von *dispar.*

Fig. 51. Männlicher Vorkern mit Spermatoplasma und den sich auflösenden Dotterkugeln von *dispar.* Aus demselben Ei wie Fig. 39.

Fig. 52. Männlicher Vorkern auf vorgerückterem Stadium von *dispar.*

Fig. 53—55. Aufeinanderfolgende Stadien des Auftauchens der Chromosomen vor der Kopulation der Vorkerne von *fuliginosa.* In Fig. 53 und 54 sind beide Vorkerne nebeneinander. In Fig. 55 liegt der eine fast ganz unter dem andern und wurde deshalb der Deutlichkeit wegen weggelassen.

Fig. 56. Vorkerne unmittelbar vor der Kopulation von *fuliginosa.*

Fig. 57. Prophase zur zweiten Furchenteilung von *L. dispar.*

Fig. 58. Auftauchen der Chromosomen in den Richtungskörpern von *fuliginosa.* Aus demselben Ei wie Fig. 54.

Fig. 59. Die letzten Reste des Eliminationschromatins im Richtungsplasma von *fuliginosa* während der Telophase der ersten Furchungsteilung.

Fig. 60. Mehrpolige Spindel des Richtungskopulationskernes von *fuliginosa* zur Zeit der Metaphase der ersten Furchungsteilung.

Fig. 61. Richtungskopulationskern von *fuliginosa* mit den letzten Resten des Eliminationschromatins nach der Telophase der ersten Furchungsteilung.

Fig. 62. Ovocyte von *fuliginosa* während der Synizesis.

Fig. 63. Nährzelle von *fuliginosa* vor dem Kompaktwerden der bivalenten Chromosomenschleifen, mit Nucleolus und der großen Geschlechtschromosomenschleife.

Fig. 64. Spermatocyte von *fuliginosa.* Synizesis.

Fig. 65. Spermatocyte von *fuliginosa* nach der Chromosomenkonjugation. Erstes Stadium des Pachytäns.

Fig. 66—68. Spermatocyten von *fuliginosa* vor der Prophase zu den Reifeteilungen. Allmähliches Auflösen des Nucleolus. In Fig. 68 tauchen die Prophasenchromosomen auf.

Fig. 69. Spermatocyte von *fuliginosa.* Prophase zur ersten Reifeteilung mit den verschiedenen Typen der Prophasenchromosomen. 5 ist das bivalente Geschlechtschromosom.

Fig. 70. Spermatocyte von *fuliginosa.* Kompaktwerden der Prophasenchromosomen mit dem großen Geschlechtschromosomenring.

Fig. 71. Spermatocyte von *japonica* mit den verschiedenen Typen von Prophasenchromosomen.

Studien über die feinere Beschaffenheit des Nervensystems des Regenwurmes, nebst Bemerkungen über die Organisierung des Nervensystems.

Von

Dr. Andreas von Szüts.

Budapest, Ungarisches Nationalmuseum.

(Aus dem Zoologischen und Komp. Anatomischen Institut der Universität zu Budapest. Direktor: Hofrat Dr. Géza Entz sen.)

Mit Tafel VIII—IX.

Inhalt.

I. Einleitung.

In der Literatur der Neurologie beschäftigten sich mehrere Abhandlungen sowohl in älterer als auch in neuerer Zeit mit dem Nervensystem der Oligochäten. Die hervorragendsten Bekämpfer der Neuron- und Kontinuitätslehre haben dieses oft für das Objekt ihrer Untersuchungen genommen, um daraus Beweise für ihre Ansichten zu

schöpfen. Diese Bestrebungen beweisen die Arbeiten von Apáthy, Lenhossék, Retzius, Ramón y Cajal, zu welchen in neuerer Zeit die hervorragenden Untersuchungen von Krawany, Boule, Kowalsky und Dechant gesellt sind.

Ich selbst habe schon seit längerer Zeit die Untersuchung dieses Objektes und der damit zusammenhängenden allgemeinen Fragen unternommen. Ich hatte schon die Gelegenheit, einen Teil meiner Ergebnisse in mehreren Artikeln zu veröffentlichen (40, 41, 42). In meinen neueren Untersuchungen bin ich, sowohl die Einzelheiten als auch die allgemeinen Folgerungen betreffend, zu einem gewissen Abschluß gekommen, und daher halte ich es für geeignet, eine Zusammenfassung der Ergebnisse zu veröffentlichen, in der Hoffnung, daß ich die unklaren Punkte der neurologischen Ansichten mit neuen Tatsachen und Erörterungen bis zu einem gewissem Grade klarlegen kann.

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Hofrat Dr. Gèza Entz sen. meinen tiefsten Dank zum Ausdruck zu bringen, daß er mir die Benutzung seines Instituts erlaubte und mich durch sein ständiges Interesse an meiner Arbeit unterstützte.

II. Material und Methoden der Untersuchung.

Ich untersuchte mehrere Arten der Lumbriciden, und sämtliche bewiesen sich für die Untersuchung geeignet und führten zu einem identischen Erfolge. Die untersuchten Arten sind die folgenden: *Lumbricus terrestris* L., *Eisenia rosea* Sav. und *Helodrilus* (*Dendrobaena*) *platyurus* Fitz. Es gelang mir vorzugsweise von einem 40 cm langen und fingerdicken Exemplar des letzteren, mit Hilfe der Ramónschen Versilberungs- und der Apáthyschen Nachvergoldungsmethode die schönsten Präparate zu verfertigen. Ich erwähne noch meine älteren Präparate von *Archaeodrilus dubiosus* (Örley), auf welche ich mich in einer früheren Abhandlung (42) stützte und die ich auch in meinen neueren Untersuchungen zu Hilfe genommen habe.

Für die Mehrzahl meiner Untersuchungen dienten zwar hauptsächlich die Ramón y Cajalschen[1]) und Apáthyschen Methoden, indem ich aber

[1]) Ich bemerke, daß der Name des großen spanischen Histologen in der ganzen Literatur falsch zitiert wird. In den spanischen Adelsnamen ist nämlich nach dem Familiennamen, mit y (= und) verbunden, der Familienname der mütterlichen Familie geschrieben, der Name Cajal ist also der Familienname der Mutter des Betreffenden. Es ist also verfehlt, in Verkürzungen den Namen Cajal zu schreiben. Der eigentliche Familienname ist Ramón, und in Verkürzungen ist dieser zu schreiben. Das halte ich für nötig zu bemerken, weil man in der ganzen deutschen sowohl wie in der französischen Literatur den Namen Cajal findet.

auch auf Untersuchungen andrer Natur eingegangen bin, halte ich es für geeignet, die Benutzung andrer histologischer Methoden, vorzugsweise Fixierungen und Färbungen, zu besprechen.

Zur eingehenden Untersuchung der verschiedenen Gewebe der Lumbriciden haben sich die folgenden Fixierlösungen als geeignet erwiesen.

1. Sublimat-Alkohol-Eisessig, nach Apáthy. Fixiert gut die sämtlichen Gewebe der Lumbriciden, vorzugsweise die Kernstrukturen, die Protoplasmastruktur jedoch nur für allgemeine Zwecke.

2. Pikrin-Sublimat-Eisessig nach Lang und Pikrin-Sublimat nach Rabl ist von gleicher Wirkung.

3. Die Rabl- und Rathschen Platinchlorid-Osmiumflüssigkeiten fixieren sehr schön die Kernstruktur.

4. Sublimat-Osmium, nach Apáthy, geeignet für allgemeine Zwecke und für Neurofibrillen, im letzteren Falle mit Nachvergoldung.

5. Formol-Salpetersäure nach Apáthy ist ein sehr gutes Fixierungsmittel, jedoch mehr für allgemeine Zwecke.

6. Die Bouin- und Mannschen Flüssigkeiten sind für sämtliche Gewebe geeignet. Vorzugsweise für Stützfibrillen der Epidermzellen, für feinere Struktur der Längsmuskeln des Hautmuskelschlauches, für Myofibrillen, für Spermatogenesis, für Ganglien- und Gliazellen und Gliafibrillen. Mit Eisenhämatoxylin gibt es wunderschöne Bilder.

7. Die Carnoysche Flüssigkeit ist von gleicher Wirkung.

8. Die Flemmingsche Flüssigkeit, nach der Benda-Mevesschen Vorschrift, ist für die feinere Struktur des Plasmas geeignet.

9. Die Hermannsche Flüssigkeit bewies sich nicht so gut, wie die obige.

10. Platinchlorid-Formol-Sublimat (41) ist gut für Stützfibrillen der Epidermzellen und im allgemeinen für die feinere Struktur jeder Zellenart.

Die Färbungsmethoden will ich im folgenden besprechen.

1. Hämatein-Eosin, entweder Mayersches oder Apáthysches Hämatein I A, sowohl in schneller, als auch in langsamer Färbung mit stark verdünnten Lösungen nach Rawitz, ferner die Dreifachfärbung mit Hämatein I A + Picrorubin nach Apáthy, leistete Gutes für allgemeine Zwecke und für die Untersuchung des Bindegewebes und der Drüsen. Ich besitze schöne Präparate mit Orange G + Hämatoxylin und Hämatoxylin + Safranin, besonders mit Glycalaunhämatein von Rawitz und mit Delafieldschem Hämatoxylin.

2. Zur elektiven Färbung der Ganglienzellenfortsätze und der Neuroglia und zur Untersuchung der feineren Beschaffenheit derselben benutzte ich das Mallorysche Hämatoxylin und mein Molybdänsäure-Ammonia-Hämatoxylin.

3. Das Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN färbt sehr schön sämtliche fibrilläre Strukturen, wie Stützfibrillen der Epidermzellen, Myofibrillen, Gliafibrillen, sowohl im Centralnervensystem als auch in den Nerven. Ist sehr gut zur Untersuchung der Drüsen, der Nephridien, der Darmepithelzellen, der Chlorazogenzellen, der Blutgefäße, der Borstenfollikel und der Spermatogenese, besonders nach Fixierung mit BOUIN-, MANN- und CARNOYScher Flüssigkeit und Platinchlorid-Formol-Sublimat. Eine Nachfärbung mit Eosin oder mit Aluminium-Alizarin (41) gibt sehr scharfe Bilder.

4. Die Mitochondriafärbungen nach BENDA sind für die Untersuchung der Drüsen und Nephridien gut.

5. Die verschiedenen Anilinfarben, unter welchen ich mit Methylenblau, Gentianaviolett, Toluidinblau, Thionin, Safranin und Methylgrün arbeitete, sind für die feinere Struktur der Drüsen, der Darm- und Epidermzellen und der Ganglienzellen geeignet.

Von den speziellen nervenhistologischen Methoden ist in der topographischen Untersuchung der Ganglienzellen die vitale Methylenblauinjektion, an herauspräparierten und plattgedrückten Ganglien mit bestem Erfolge benutzt, wie dies von KRAWANY (26) angewendet ist, ich benutzte jedoch hauptsächlich die Differenzierung mit Ammoniak nach APÁTHY (3). Die GOLGI-Methode leistete ebenso Gutes, in welcher ich nach LENHOSSÉK (28) verfahren bin; die Stücke sind nämlich bis 7 Tage in Kaliumbichromat-Osmium geblieben. Ich benutzte mit gutem Erfolge die schnelle Methode von RAMÓN und die Methode von SMIRNOW (39): 1,5—2 cm große Stücke in einem Gemisch gleicher Teile von 5%igem Kaliumbichromat und 1%igem Osmiumtetraoxyd bis 5—28 Tagen und nachher in 0,75—1%igem Silbernitrat bis 24—36 Stunden. In der Untersuchung der feineren Struktur der Ganglienzellen sind die NISSLsche Färbung und die Thioninfärbung nach LENHOSSÉK verwendet.

In der Untersuchung der Neurofibrillen und der Neurofibrillengitter der Ganglienzellen benutzte ich mit schönem Erfolge die APÁTHYsche Nachvergoldungsmethode, besonders mein doppeltes Verfahren (41). Zur Nachvergoldung wurde das Material mit Sublimat-Alkohol oder mit Sublimat-Osmium nach APÁTHY (1) fixiert. Unter den RAMÓNschen Methoden bewies sich die direkte Versilberung, ohne vorhergehendes Fixieren, völlig unbrauchbar, wie dies von BOULE (9) schon angegeben wurde. In diesem Falle werden die Neurofibrillen überhaupt nicht gefärbt. Die neueren Methoden von RAMÓN (34) haben schon zu einem besseren Resultat geführt. Die Neurofibrillen werden in jedem Falle nach den BOULEschen Methoden (9, 10) am schönsten differenziert, in welchen

nämlich vor der Versilberung verschiedene essigsäure-, ammoniak-, formol- und alkoholhaltige Fixierungsflüssigkeiten angewendet werden. Wenn die so behandelten Schnitte nach Lenhossék (29) nachvergoldet werden, so bekommt man die Neurofibrillenstrukturen in außerordentlich scharfen, klaren Bildern.

Ich habe meine Erfahrungen, welche ich über die Wirkung des Fixierens auf die Neurofibrillenstruktur und vorzugsweise über die Bouleschen Methoden gewonnen habe, schon an andrer Stelle vorgetragen, ich verweise also in dieser Hinsicht auf meine früheren Publikationen (40, 41). An denselben Stellen habe ich ferner die Weiterbehandlung des versilberten Materials und seine Vorbereitung zum Schneiden besprochen.

III. Topographie des centralen Nervensystems.

Das Centralnervensystem des Regenwurmes ist, wie bekannt, in die folgenden Abschnitte gegliedert.

Man findet in jedem Segment unter dem Darmkanal und dem Bauchgefäß je ein Paar zusammengeschmolzene Ganglien. Diese sind in beiden Längsrichtungen verlängert und setzen sich in die die einzelnen Ganglien miteinander verbindenden Connective fort. Die Ganglien sind in der ganzen Länge des Körpers zu einer kontinuierlichen Kette, der sogenannten Bauchganglienkette, verschmolzen. Von beiden Seiten der Bauchganglien entspringen zwei Nervenstämme, unter welchen der hintere ein paariger Stamm ist. Diese ziehen sich in schiefer Richtung durch das ventrale Muskelfeld hindurch, indem sie sich gegen das ventrale Borstenpaar richten. Die Nervenstämme wenden sich zwischen der Längs- und Ringmuskellage zur Rückenseite, und ziehen sich, als Ringnerven, in der Grenze der Muskellagen fort. In dem vierten Körpersegment liegt unter dem Schlunde das Unterschlundganglion (Subpharyngealganglion), welches größer ist als die Bauchganglien und aus zwei verschmolzenen Bauchganglien entstanden ist. In dem dritten Segment, über der vorderen Partie des Schlundes, liegt das mächtige Oberschlundganglion oder Gehirnganglion (Suprapharyngealganglion). Das Gehirnganglion und das Unterschlundganglion sind beiderseits mit dem Schlundconnectiv oder sogenannten Schlundringe verbunden, welcher wie ein einheitlicher Ring den Schlund umgibt.

Die Verteilung der Gewebeelemente in den verschiedenen Regionen des Centralnervensystems ist bereits in älteren Arbeiten beschrieben. Es wurde jedoch auch in neuerer Zeit die Lage der Zellen, der Ablauf ihrer Fortsätze, besonders mit der Golgi-Methode untersucht. Ich nenne die Arbeiten von Retzius (35) und Havet (19), in welchen dieser Gegen-

stand gründlich durchgearbeitet ist. Von der topographischen Histologie des Centralnervensystems gewinnt man ein sehr klares Bild aus den Untersuchungen KRAWANYS (26), welche er an plattgedrückten Ganglien mit der vitalen Methylenblaufärbung ausgeführt hat. Ich konnte mit meinen Untersuchungen, welche ich mit der Methylenblaumethode, mit der GOLGIschen und RAMÓNschen Methode ausgeführt habe, die genauen und ausführlichen Beschreibungen KRAWANYS nur mit einigen kleineren Details ergänzen; ich beabsichtige also meine Ergebnisse im Einklange mit KRAWANY vorzutragen, und versuche daher die Zellen, welche von KRAWANY in der Längsebene beschrieben sind, in die Zellgruppen, die in dem Querschnitt der Ganglien zu unterscheiden sind, genau einzureihen.

Ich beginne meine Beschreibungen mit der Struktur der Bauchganglien, und dann wende ich mich zur Histologie des Unterschlundganglions und des Gehirns.

Wie von den älteren Autoren bekannt ist, liegen die Ganglienzellen in der Oberfläche der Ganglien. Das Innere der Ganglien ist von einer fibrillären Substanz, von der sogenannten centralen Fasermasse oder LEYDIGschen Punktsubstanz eingenommen, welche von den zusammengeflochtenen Fortsätzen der Ganglienzellen gebildet ist. In der hinteren Seite der Ganglien sieht man drei mächtige, röhrenartige Gebilde, welche mit einer faserigen Hülle umgeben sind. Diese sind die sogenannten riesigen Röhrenfasern oder Neurochorde. FRIEDLÄNDER (16), APÁTHY (1), und neuestens BOULE (10) haben sie ausführlich geschildert.

Die an der Oberfläche verteilten Ganglienzellen bilden mehrere, gut unterscheidbare Gruppen. KRAWANY (26) unterscheidet nur zwei Zellenlager, ein mediales und ein laterales. In Querschnitten kann man dagegen leicht die Überzeugung gewinnen, daß die Zellen in sechs, gut getrennte Gruppen verteilt sind, wie dies von APÁTHY (1) in den Ganglien des Blutegels nachgewiesen ist. Die Zellgruppen sind die folgenden:

1. Vordere Mediangruppe,
2. Hintere »
3. Vordere Seitengruppe links,
4. » » rechts,
5. Hintere » links,
6. » » rechts.

In dem Aufbau der Ganglien ist die Erscheinung auffallend, daß die Zellen und ihre Fortsätze in den zwei entgegengesetzten Seiten der Ganglien symmetrisch verteilt sind; eine Seite des Ganglions ist ein wahres Spiegelbild der andern. Dieser symmetrische Bau ist erstmals von BIEDER-

MANN 1891 (8) in den Ganglien des Blutegels beschrieben. BIEDERMANN hatte von seinen Methylenblaupräparaten die Erfahrung gewonnen, daß beiderseits die gleichen Elemente gefärbt werden. Nach ihm hat APÁTHY (1) 1897 in den Ganglien des Blutegels mit Hilfe der Methylenblaumethode den symmetrischen Bau der Ganglien ausführlich geschildert. KRAWANY (26) hat in den Ganglien des Regenwurmes die symmetrische Lage der Zellen und ihrer Fortsätze und ihre symmetrische Färbung mit Methylenblau beschrieben. Nach APÁTHY (1, 3) sind die symmetrisch liegenden Zellen und ihre Fortsätze sogar in ihrem Verhalten gegen die Fixierung und Färbung symmetrisch; die Zelle, welche in einer Seite des Ganglions ihrer Lage nach einer andern Zelle der entgegengesetzten Seite entspricht, ist in derselben Weise fixiert und in demselben Grade gefärbt. Indem nach APÁTHY die Fixier- und Färbbarkeit der Zelle von dem physiologischen Zustande derselben abhängig ist, folgt von der symmetrischen Fixierung und Färbung der symmetrischen Zellen, daß dieselben sich in einem, einander entsprechenden physiologischen Zustande befinden, also entsprechend funktionieren. Wie es später ausführlicher geschildert wird, sind die Ganglienzellen mit der RAMÓNschen Methode in sehr verschiedenen Graden gefärbt; man findet Übergänge von ganz schwarzen Zellen bis ganz hellen. Die symmetrischen Zellen sind auch mit der RAMÓNschen Methode beiderseits in gleicher Weise und im gleichen Grade tingiert. Man kann in einer Seite des Ganglions nebeneinander die Zellen in den verschiedensten Nuancen gefärbt beobachten, und man sieht in der entgegengesetzten Seite des Ganglions jeder Zelle eine entsprechende Zelle, welche in demselben Grade tingiert ist. Ich hatte schon mehrmals die Gelegenheit auseinanderzusetzen, daß die Silbertinktion der Zellen von ihrer Fixierung abhängig ist, die symmetrische Silbertinktion der symmetrischen Zellen ist daher in völligem Einklange mit den Beobachtungen und Gedanken von APÁTHY.

Unter den Ganglienzellen kann man 1. motorische Zellen und 2. Binnenzellen oder Schaltzellen unterscheiden.

Der Fortsatz der motorischen Zellen tritt entweder auf der gleichen Seite in einen Nervenstamm hinein, und verläßt also auf der gleichen Seite das Ganglion, oder er wird in dem Innern des Ganglions mit dem Fortsatze einer entsprechenden Zelle der entgegengesetzten Seite gekreuzt, läuft an die andre Seite über und tritt in dem Nervenstamme der entgegengesetzten Seite aus dem Ganglion hinaus. Zu dem einfachen Nerven gehören zwei motorische Zellenpaare, welche in der Ebene des Nerven liegen. Das vordere, kleinere Paar befindet sich im Querschnitte in der vorderen Mediangruppe, seine Fortsätze beugen sich zur Mitte

des Ganglions, wo sie gekreuzt werden. Das hintere Paar liegt in der hinteren Lateralgruppe, seine Fortsätze ziehen horizontal mittelwärts und werden ebenfalls gekreuzt.

Zu dem vorderen Nerven des paarigen Nervenstammes gehören vier motorische Zellenpaare: 1. ein vorderes Zellenpaar, welches fast in der Höhe des einfachen Nerven, in der vorderen Lateralgruppe liegt. Seine Fortsätze laufen hinterwärts längs dem Rande des Ganglions und sind nicht gekreuzt. 2. Etwas dahinter liegt ein ähnliches, nicht kreuzendes, antero-laterales Zellenpaar. 3. Ein antero-mediales Zellenpaar mit gekreuztem Fortsatze. 4. Ein antero-laterales Zellenpaar, ebenfalls mit gekreuztem Fortsatze.

Zum hinteren Nerven des paarigen Nervenstammes gehören sechs Zellenpaare, zwei von diesen liegen in der vorderen Mediangruppe, mit nicht kreuzendem Fortsatze, zwei Paare in der hinteren Seitengruppe und zwei Paare in der vorderen Seitengruppe mit kreuzendem Fortsatze. Diese sind fast sämtlich bipolare Zellen.

Die Fortsätze der Binnenzellen treten nicht durch die Nerven hinaus, sondern sie bleiben in dem Ganglion drinnen, oder sie laufen längs der Bauchganglienkette, gehen in das Nachbarganglion oder in ein ferner liegendes Ganglion über.

Diese Zellen liegen in den medialen und seitlichen Gruppen. Drei Paare solcher Zellen mit kreuzendem Fortsatze liegen in der vorderen Mediangruppe. Die Fortsätze besitzen lange Collateralen, welche durch mehrere Ganglien verfolgbar sind. In der vorderen Mediangruppe liegen noch zwei Zellenpaare, deren Fortsätze nicht gekreuzt sind.

Von seitlich liegenden Binnenzellen findet man neun Paare, welche teils in der hinteren, teils in der vorderen Seitengruppe liegen und deren Fortsätze größtenteils gekreuzt sind.

Von diesen Zellen und von ihren Fortsätzen kann man nur in Längsschnitten ein leicht übersehbares Bild haben. Es fällt jedoch auch in den Querschnitten eine, meistens von drei Zellen zusammengesetzte Gruppe bald ins Auge, welche sich in der vorderen Mediangruppe befindet. Die Fortsätze dieser Zellen laufen rückwärts parallel nebeneinander und sie kehren in regelmäßigem Bogen gegen die Mitte des Ganglions, und die von der entgegengesetzten Seite herbeikommenden Fortsätze kreuzend gehen sie in die andre Seite über.

In den Querschnitten kann man noch außer den bisher geschilderten Zellen andre Zellen nachweisen, welche größtenteils von Krawany (26) nicht erwähnt sind. An der vorderen Seite der Ganglien sieht man eine große unpaare, centrale Zelle. Von dieser Zelle zieht ein Fortsatz hinter-

wärts und endet bei der Kolossalfaser, während zwei andre Fortsätze in der linken und rechten Seite des Ganglions in der centralen Fasermasse verästeln. Diese Zellen sind von Boule (10) erwähnt. Außerdem findet man unmittelbar bei dem Austritte der Nervenstämme verschiedenartige Zellen, unter welchen einige schon ganz im Nervenstamme liegen. Diese werden auch nicht von Krawany erwähnt, er zeichnet und beschreibt höchstens zwei Zellenpaare unter den, zu dem zweiten Nerven des paarigen Nervenstammes gehörenden Zellen, welche unmittelbar bei der Wurzel des Nerven liegen; diese können mit den fraglichen Zellen identisch sein. Diese sind sehr verlängerte, schlauchförmige, bipolare Zellen, mit zwei langen Fortsätzen, deren einer durch den Nerven austritt und der andre centralwärts zieht. Ich werde diese Zellen noch näher erörtern. Ich konnte ferner in der Wurzel des einfachen Nerven birnförmige, unipolare, motorische Zellen beobachten, welche von Krawany nicht erwähnt sind. Ihr Fortsatz tritt unmittelbar in den Nerven hinein (Fig. 1).

Krawany erwähnt noch eine Zellengruppe, welche von vier bis fünf kleinen Zellen zusammengesetzt ist (26) und welche in der hinteren Lateralgruppe liegen. Diese werden von Krawany für sensorische Zellen gehalten. Sie sind birnförmige Zellen, ihre feinen Fortsätze kreuzen die von dem Nerven eindringenden Fibrillen und werden nachher Y-förmig verästelt (Fig. 2). Nach Lenhossék (28) und Retzius (36) liegen die sensorischen Zellen in dem Epiderm und entsprechen den Spinalganglienzellen der höheren Tiere. Die Fortsätze dieser Zellen treten mit dem Ringnerven in das Ganglion hinein, wo sie Y- oder T-förmig verästelt werden. Krawany betrachtet die erwähnten Zellen eben nach ihrem Y-förmig verästelten Fortsatze als sensorische Zellen und gegen Lenhossék und Retzius behauptet er, daß außer den sensorischen Fibrillen, welche von dem Epiderm entspringen, auch solche vorkommen, deren Zellen in den Ganglien liegen. Ich werde diese Frage noch in der Beschreibung der intermuskularen sensorischen Ganglienzellen näher erörtern.

In der Beachtung der Zahl der Zellfortsätze sieht man an Querschnitten meistens birnförmige, unipolare Zellen, welche ihren Fortsatz in die centrale Fasermasse entlassen. Nach Apáthy (1) sind die Ganglienzellen in Wirklichkeit alle multipolar; daß sie an Querschnitten meistens birnförmig und unipolar zu sein scheinen, kommt daher, daß nur der quere Fortsatz in die Ebene des Schnittes hineinfällt, während die übrigen Fortsätze longitudinal vorwärts oder rückwärts gerichtet sind. Dieser Fortsatz, welcher in die Ebene des Schnittes hineinfällt und gegen die centrale Fasermasse gerichtet ist, ist der stärkste. Man sieht in Schnitten

oft spindelförmige, an ihren zwei Enden eingekrümmte Zellen, von denen ein Fortsatz gegen den Nervenstamm, der andre gegen die centrale Fasermasse gerichtet ist, welch letzterer Fortsatz durch eine Commissur in die andre Seite des Ganglions verfolgbar ist. Multipolare Zellen, welche auf einem Pole einen oder zwei stärkere Fortsätze und mehrere dünnere dendritenartige Fortsätze besitzen, kann man auch öfters beobachten.

In der hinteren Partie der Ganglien sieht man eine mächtige Commissur, nämlich die hintere Commissur, in welcher die Fortsätze der meisten motorischen Zellen gekreuzt sind, in die andre Seite herübergehen und mit dem Nervenstamme hinaustreten. Die oben erwähnten bipolaren Zellen, deren Fortsatz in der hinteren Commissur gekreuzt wird, liegen meistens in der vorderen Seitengruppe. In der vorderen Partie der Ganglien sieht man die vordere Commissur, in welcher die Fortsätze der vorderen motorischen Zellen gekreuzt werden. Unter diesen sind ebenfalls bipolare Zellen vorhanden, von denen der eine Fortsatz in der Commissur gekreuzt wird und der andre in der centralen Fasermasse verästelt ist.

Diese letzteren Fortsätze kreuzen regelmäßig die übrigen horizontalen Fasern der Commissur.

Die motorischen Fasern der Nervenstämme treten, wie oben gesagt wurde, entweder an derselben, oder nach Kreuzung an der entgegengesetzten Seite in den Nervenstamm hinein. Die sensorischen Fasern, welche von den Nervenstämmen in das Ganglion eindringen, werden T- oder Y-förmig verästelt und in der Längsrichtung laufend, gehen sie in die Fasermasse der benachbarten oder ferner liegenden Ganglien über.

Unter den Fortsätzen der hinteren lateralen Zellen habe ich solche gefunden, welche sich gegen die vordere Seite beugen, oder abwärts gebogene Äste entlassen. Diese Äste ziehen die centrale Fasermasse durch und werden bei den vorderen Zellgruppen verästelt.

Die Struktur des Subpharyngealganglions ist durch die Untersuchungen von Friedländer (15) und Krawany (26) bekannt. Dieses besteht aus zwei verschmolzenen Ganglien. In seinem Querschnitte sieht man dieselben Zellgruppen wie in den Bauchganglien. Die größte Gruppe ist die hintere Mediangruppe. Sie ist größtenteils von birnförmigen Zellen und von wenigen bipolaren Zellen zusammengesetzt, welche ihre Fortsätze durch die centrale Fasermasse nach der vorderen Commissur entlassen. Die Fortsätze der vorderen Zellen sind in der centralen Fasermasse verästelt. Gegen diese Zellen läuft ein in braune Perifibrillärsubstanz gehülltes, mächtiges Faserbündel: dies sind die von dem Faserbündel der Schlundconnective und von ihren Ganglienzellen herbei-

kommenden Schaltfasern, welche das Gehirn und das Unterschlundganglion zusammenschalten. Die Fasern der vorderen Commissur des Unterschlundganglions setzen sich aus den gekreuzten und in den Nervenstamm tretenden Fortsätzen der vorderen motorischen Zellen, aus den Fasern der Schlundconnective und aus den Fortsätzen der hinteren Zellen zusammen. Außerdem findet man im Unterschlundganglion eine hintere Commissur.

Die Verteilung der Ganglienzellen und der Lauf ihrer Fortsätze ist in dem verschmolzenen hinteren Ganglion nach Krawany (26) den Bauchganglien ähnlich. In dem vorderen Ganglion gesellen sich aber zu diesen Elementen noch vier weitere Zellenpaare, welche schon die charakteristischen Elemente des Unterschlundganglions sind. Die Fortsätze der Zellen sind gekreuzt. Einige Fortsätze sind T-förmig verästelt, und der vorwärts laufende Ast geht in das Schlundconnectiv über. Andere Fortsätze berühren sich mit von den Bauchganglien kommenden Fortsätzen, die zu ihnen gehörigen Zellen schalten nachher das Unterschlundganglion mit den Bauchganglien zusammen, während die oben erwähnten Fortsätze, welche in die Schlundconnective laufen, zur Verbindung mit dem Gehirn dienen.

In dem Unterschlundganglion findet man außer den aufgezählten Zellen über der vorderen Commissur eine große, centrale, unpaare Zelle, welche schon von Friedländer (15) erwähnt wurde. Die Zelle entläßt links und rechts je einen, mit der vorderen Seite parallelen Fortsatz, welcher zwischen den Fasern der vorderen Commissur läuft. Man findet auch hier unmittelbar bei den Nervenstämmen große, multipolare motorische Zellen. Diese besitzen mehrere kürzere, verästelte, dendritenartige Fortsätze, ihr Hauptfortsatz setzt sich unmittelbar in dem Nervenstamm fort und ist bis zu den Muskeln verfolgbar.

In dem Suprapharyngealganglion oder Gehirn sieht man drei mächtige Commissuren, und zwar die vordere, die mittlere und die hintere Commissur, ferner die folgenden Zellenarten.

Die hintere oberflächliche Schicht des Gehirns ist mit kleinen, rundlichen oder spindelförmigen bipolaren Zellen ausgefüllt (Fig. 3 *c*). Ihre Hauptfortsätze sind äußerst zart, sie laufen parallel mit dem hinteren Rande des Ganglions und sind in der Mitte mit den von der entgegengesetzten Seite kommenden, ähnlichen Fortsätzen gekreuzt. Die hintere Commissur ist größtenteils von diesen zusammengesetzt. Nach Krawany (26) stellen diese Zellen den eigentlichen Centralapparat, die Gehirnrinde dar. Diese Zellen sind schon von Walter (46) und von Friedländer (15) erwähnt, von ihren Fortsätzen bekommt man jedoch zuerst

von Krawany sichere Daten. Mit ihnen sind noch, jedoch in kleinerer Zahl, größere Zellen vermengt. Etwas mehr drinnen sieht man große, birnförmige Zellen, deren Fortsätze mehrfach verästelt sind (Fig. 3 *p*). Einer der Äste ist schon in der hinteren Seite des Gehirns weiter geteilt, der andre hingegen läuft weiter gegen den vorderen Rand und entläßt Seitenäste sowohl in die mittlere, als auch in die vordere Commissur. Die Zellen besitzen einen sehr auffallenden Fortsatz; man sieht gut, wie dieser Fortsatz die centrale Fasermasse in radialer Richtung durchzieht, während die Fortsätze der seitlich liegenden ähnlichen Zellen bogenförmig gegen den vorderen Rand ziehen. Die Äste sind, die vordere Commissur erreichend, T-förmig zweigeteilt und die verästelten Fasern laufen in entgegengesetzter Richtung, wellenförmig zwischen den Fasern der vorderen Commissur fort, parallel mit dem vorderen Rande des Gehirns. Diese Zellen sind auch von Walter (46) und von Friedländer (15) erwähnt, ihre Fortsätze sind jedoch nur von Krawany (26) genau beschrieben. Krawany konnte jedoch nicht sicher entscheiden, ob die charakteristischen T- oder Y-förmig verästelten Fasern der vorderen Commissur von diesen Zellen entspringen, er hält es für wahrscheinlich, daß diese Fasern die Fortsätze der kleinen Rindenzellen sind; das ist jedoch, wie gezeigt wurde, nicht richtig, weil diese Fortsätze zu den großen, birnförmigen Zellen gehören. Diese Zellen sind übrigens von Krawany (26) als der erste Zellentypus, als innere Schaltzellen beschrieben, von denen jeder Fortsatz in dem Gehirn bleibt. Man kann unter den Zellen zwei Typen feststellen: die Zellen des einen Typus schalten die hintere und vordere Seite des Gehirns zusammen, während die in der vorderen Commissur verästelten Fortsätze die linke und rechte Seite des Gehirns zusammenschalten (Fig. 3 p, p_1). Sowohl in der linken wie in der rechten Seite des Gehirns sieht man zerstreute Zellgruppen, welche von rundlichen, birnförmigen und spindelförmigen Zellen zusammengesetzt sind, und ebenfalls dem Krawanyschen ersten Typus entsprechen. Es sind ganz kleine, längliche, birnförmige Zellen vorhanden, welche ihre Fortsätze in der vorderen Commissur mittelwärts entlassen, wo dieselben mit den, von der entgegengesetzten Seite kommenden Fortsätzen gekreuzt werden. Mehr seitlich liegen ähnliche, jedoch größere Zellen mit gekreuztem Axon (Fig. 3 *l*). Unter diesen Zellen, schon an der Grenze der Schlundconnective, laufen Fortsätze birnförmiger Zellen unmittelbar in das Faserbündel der Schlundconnective hinein (Fig. 3, *o*). Dies sind die Zellen des Krawanyschen zweiten Typus; ihre Fortsätze sind nicht gekreuzt, sie verlassen das Gehirn an derselben Seite, treten in das Schlundconnectiv hinein und enden in dem Unterschlundganglion. Diese Fort-

sätze ergänzen also die Funktion jener Fasern, welche in der Bauchganglienkette entspringend, in der Fasermasse des Gehirns enden. KRAWANY (26) erwähnt noch die folgenden. Von den Gehirnnerven und von dem Schlundringe treten viele sensible Fasern in das Gehirn ein, welche in der hinteren Commissur oder in dem Neuropil reichlich verästeln, die in den Bauchganglien charakteristische T-förmige Teilung der sensiblen Fasern fehlt also in dem Gehirn. Unter den Fasern, welche von den Gerhirnnerven eintreten, sind auch dickere Fasern vorhanden; diese entspringen von den intermuskulären sensorischen Zellen. Während die kleinen Rindenzellen den eigentlichen Centralapparat darstellen, schalten die großen Zellen die einzelnen Teile des Gehirns oder das Gehirn mit der Bauchganglienkette zusammen. Das Gehirn entbehrt motorischer Zellen.

Von KRAWANY (26) ist eine gewisse große, multipolare Zelle unbeachtet geblieben, welche ich in der Nähe des vorderen Randes regelmäßig in der Mittellinie gefunden habe. Diese große unpaare Zelle entsendet meistens vier starke Fortsätze, welche zwischen den Fasern der vorderen Commissur laufen und reichlich verästelt sind (Fig. 3 *m*). Diese Zelle kann man ebenfalls unter die großen Schaltzellen, den ersten Zellentypus von KRAWANY, einreihen.

In der Faserung des Gehirns ist vor allem die mächtige hintere Commissur auffallend, welche größtenteils von den Fortsätzen der kleinen Rindenzellen zusammengesetzt ist (Fig. 3 *cp*). Diese ist von den radiären Fortsätzen der großen Birnzellen gekreuzt. Dieselben Fortsätze sind seitlich in einem mächtigen Faserbündel vereinigt. Sie sind wieder durch die Fasern der mittleren Commissur gekreuzt, welche von den bogenförmigen Fortsätzen der inneren Schaltzellen zusammengesetzt ist. Die mächtige vordere Commissur ist aus den gekreuzten Fortsätzen der seitlichen und vorderen Zellen, aus den abwärts gebogenen und T-förmig verästelten Fortsätzen der hinteren großen Schaltzellen und aus den Fortsätzen der großen, unpaaren, multipolaren Zelle zusammengesetzt (Fig. 3 *ca*).

Nach KRAWANY (26) liegt zwischen den Commissuren des Gehirns das Neuropil (Fig. 3 *n*), in welchem die Fortsätze der kleinen Rindenzellen und die Collateralen der großen Schaltzellen verästelt sind. Außerdem sind auch viele, von dem Unterschlundganglion eintretende sensible Fasern verästelt. Netzbildungen hat KRAWANY nicht gefunden, doch hat er zwischen zwei solchen, zarten parallel verlaufenden Fasern eine H-förmige Anastomose abgebildet. Diese Beobachtung werde ich noch näher erörtern.

IV. Feinere Struktur der Zellen des Nervensystems.

1. Nervenzellen und Ganglienzellen.

Apáthy (1) unterscheidet die Nervenzelle und die Ganglienzelle wie zwei verschiedene Zellarten. Die specifische leitende Substanz des Nervensystems, die leitenden Elementarfibrillen werden von besonderen Zellen gebildet. Diese sind von Apáthy Nervenzellen genannt, und sie produzieren die leitende Substanz in derselben Weise wie die Muskelzellen die contractile Substanz produzieren. Die in den Nervenzellen gebildeten leitenden Fibrillen wachsen in zwei Richtungen: einerseits gegen die peripherischen Organe, wo sie in die Muskelzellen, Sinneszellen, Drüsenzellen usw. hineinwachsen und in diesen Gitter bilden, anderseits wachsen die leitenden Fibrillen gegen das Centrum, dringen in die embryonalen Ganglienzellen hinein und bilden in dem Protoplasma derselben ebenfalls Gitter. Diese Unterscheidung der zwei Zellenarten ist in den Worten von Apáthy ausgeprägt, daß die Ganglienzellen das produzieren, was geleitet werden soll (also die Reize), und die Nervenzellen das produzieren, was leiten soll (also die leitenden Elementarfibrillen). Das Vorhandensein dieser Nervenzellen ist von Apáthy in den Hirudineen bewiesen. Er beschreibt ihre Kerne, welche den Kernen der Muskelzellen ähnlich sind, nur besitzen sie eine stärkere Kernmenbram und sind an Chromatin ärmer. Diese Kerne liegen in dem Lumen der Nervenfasern zwischen den leitenden Elementarfibrillen, von welchen sie mit spindelförmig ausgezogenen Protoplasmahöfen getrennt sind. In den sensorischen Schläuchen liegen die Kerne seitlich, dicht neben der Wand der Schläuche, zwischen der Wand und dem weichen Inhalt des Schlauches, in welch letzteren die leitenden Elementarfibrillen eingebettet sind. Es ist bekannt, daß in den Nervenstämmen der Hirudineen in verschiedenen Stellen Ganglienzellen eingeschaltet sind. Hinsichtlich des Verhaltens der Elementarfibrillen sind jedoch die zwei Zellenarten prinzipiell verschieden. Der Körper der Ganglienzellen ist nämlich von einem Fibrillengitter stets vollkommen durchflochten, am protoplasmatischen Hof der Nervenkerne dagegen ziehen die Primitivfibrillen immer einfach vorbei, und wenn sie auch den Hof durchsetzen, so bilden sie dort nie irgend ein Geflecht oder Gitter. Apáthy weist die Nervenzellen außer in den Hirudineen auch in andern wirbellosen Tieren nach. Im *Lumbricus* sind sie den Nervenzellen der Hirudineen ähnlich, sind jedoch in größerer Zahl vorhanden, aber mehr an gewissen Stellen der Nervenstämme lokalisiert. Sie sind mehr auffallend, weil ihr Körper kompakter und stärker tingierbar ist, und ihr Kern ist auch chromatinreicher; die Form des

Kernes ist meist länglich. Da Apáthy zwischen den Nervenzellen des Blutegels und des Regenwurmes keinen prinzipiellen Unterschied gefunden hatte, teilt er von den letzteren keine näheren Daten außer den oben erwähnten mit.

Den oben ausgesprochenen Satz, daß nämlich die leitenden Fibrillen von besonderen Zellen, den Apáthyschen Nervenzellen, und nicht von den embryonalen Ganglienzellen gebildet werden, sondern die leitenden Fibrillen in diese letzteren nur hineinwachsen, und die Ganglienzellen also von fremden Zellen mit Neurofibrillen versehen werden, muß man nach den histogenetischen Untersuchungen von Held (20) fallen lassen. Held hatte nämlich nachgewiesen, daß die Neurofibrillen in den embryonalen Ganglienzellen, in den Hisschen Neuroblasten, gebildet werden, — und zwar treten sie gleich in Gitterform auf. In der Produktion der Neurofibrillen spielen also besondere Nervenzellen keine Rolle, und sind dieselben nicht von den Ganglienzellen zu unterscheiden. Held schreibt jedoch eine Bedeutung in der Histogenese der Nervenelemente außer den Neuroblasten noch andern Zellen zu, dies sind nämlich die sogenannten Leitzellen, in welchen die in den Neuroblasten sich bildenden und von ihnen auswachsenden Neurofibrillen weiter wachsen, und welche Zellen in gewisser Hinsicht zur Ernährung der wachsenden Neurofibrillen dienen. Es gelang mir in meinen Untersuchungen, in den Nervenstämmen des Regenwurmes gewisse kleine, spindelförmige Zellen nachzuweisen, welche mit den Apáthyschen Nervenzellen ganz übereinstimmen und nach dem Verhalten der Neurofibrillen von den Ganglienzellen fundamental verschieden sind. Ähnliche, jedoch größere, schlauchförmige Zellen habe ich in der Wurzel der Nervenstämme gefunden. Leider konnte ich mich nicht auf histogenetische Untersuchungen stützen, doch bin ich geneigt, diesen Zellen im Wachstum und in der Ernährung der Neurofibrillen der Nervenstämme eine Bedeutung zuzuschreiben, und diese Zellen für die Reste solcher embryonalen Zellen zu betrachten, in welchen die Neurofibrillen der Nervenstämme weiter entwickelt sind. — Als solche unterscheide ich sie von den Ganglienzellen, von welchen sie nach ihrer neurofibrillären Struktur fundamental verschieden sind, und halte ich für sie die Benennung »Nervenzelle« aufrecht, jedoch ohne das Produzieren der Neurofibrillen den embryonalen Ganglienzellen abzusprechen, welche Fähigkeit durch die Untersuchungen Helds bewiesen wurde. Die embryonalen Ganglienzellen (= Neuroblasten) produzieren selbst ihr Neurofibrillengitter. Außer ihnen muß man jedoch wenigstens in gewissen Würmern das Vorhandensein andrer Zellen annehmen, welche an der Entwicklung der Neurofibrillen der Nervenstämme teilgenommen haben.

Ich unterscheide demnach die Ganglienzellen und Nervenzellen, wie besondere Zellenarten, voneinander. Die Definition Apáthys jedoch, nämlich daß die Ganglienzelle das produziere, was geleitet werden soll, und die Nervenzelle das produziere, was leiten soll, kann ich nicht aufrecht erhalten, schon deshalb nicht, weil die Ganglienzelle auch selbst Neurofibrillen zu produzieren vermag, hauptsächlich jedoch deshalb nicht, weil die Definition ganz auf der Hypothese gegründet ist, daß die Neurofibrillen das specifische leitende Element des Nervensystems darstellen sollen: dagegen versuche ich im folgenden das Entgegengesetzte zu beweisen.

2. Die Nervenzellen der Regenwürmer.

Die Nervenzellen befinden sich neben den Ringnerven, dicht an den Nerv gedrückt, immer an der inneren, der Längsmuskulatur zugewendeten Seite des Nerven (Fig. 4 *n*). Ihre Zahl ist gering, an einem Querschnitte kann man nur ein bis zwei beobachten. An der Grenze der Ring- und Längsmuskellage bemerkt man vor allem den Ringnerv, welcher in eine, die zwei Muskellagen voneinander trennende lockere bindegewebige Substanz einbettet ist (Fig. 4 *r*). Die Grundsubstanz des Nerven bildet eine dunkel gefärbte Perifibrillarsubstanz, in welcher wellige Neurofibrillen laufen. An der inneren Seite des Nerven, dicht an die Perifibrillarsubstanz gedrückt, findet man die Nervenzelle. Diese ist eine äußerst kleine, spindelförmige, bipolare Zelle, deren zwei Fortsätze unmittelbar neben der Perifibrillarsubstanz des Ringnerven laufen. Das Protoplasma der Nervenzelle und ihrer Fortsätze ist homogen, ihr Kern ist verlängert, hell.

In den Fortsätzen zieht je eine Neurofibrille nach der Zelle, wo sie verästelt wird; ihre Äste umgeben den Kern. Die Neurofibrillenäste sind nicht miteinander verflochten, sie durchsetzen nur die Zelle, vereinigen sich wieder an dem entgegengesetzten Pole und werden in einer im Fortsatze austretenden Fibrille fortgesetzt. In der Zelle ist also kein Neurofibrillengeflecht oder irgendein Gitter vorhanden, sondern nur einfach durchziehende Neurofibrillen. Nach dieser Struktur sind die Nervenzellen von den Ganglienzellen, welche von einem Neurofibrillengitter stets umsponnen sind, vollkommen und bestimmt verschieden. Beide Fortsätze der Nervenzelle und die in denselben sichtbaren Neurofibrillen sind gleich dick. Die Fortsätze sind auf einer ausgedehnten Strecke neben dem Nerven verfolgbar.

Dechant (12) bemerkt, daß er in den Ringnerven bipolare Zellen beobachtet hatte, ich konnte jedoch in seiner Beschreibung nicht meine

kleinen Nervenzellen, sondern die später zu beschreibenden, größeren intermuskulären Sinnesganglienzellen erkennen.

Es gelang mir beim Ursprung der Nervenstämme ähnliche Nervenzellen zu beobachten (Fig. 5 u. 6). Diese können mit keinem der von Krawany (26) festgestellten Zellentypen identifiziert werden, weil sie von den Ganglienzellen derweise verschieden sind, wie die oben geschilderten Nervenzellen. Sie befinden sich einzeln oder selten paarig in dem Austritte des Nervenstammes. Sie sind dicht an das in dem Nervenstamme laufende und in eine perifibrilläre Hülle eingehüllte Neurofibrillenbündel gedrückt. Diese Zellen sind etwas größer, als die in dem Ringnerven sich befindlichen Nervenzellen, ihr Kern ist mehr rundlich. Ihre Gestalt ist jedoch stets verlängert, spindelförmig. Ihre Fortsätze sind gleich dick, sie sind zu einem feinen Faden ausgezogen, der innere Fortsatz ist manchmal verästelt. Die neurofibrilläre Struktur ist den oben beschriebenen Zellen ähnlich: die verästelten Fibrillen des Fortsatzes durchsetzen die Zelle einfach parallel, ein Neurofibrillengitter oder irgendein Geflecht ist in der Zelle nicht vorhanden.

In neuerer Zeit ist von Boule (11, S. 446, Fig. 12) eine kleine spindelförmige Zelle von dem peripherischen Nerven des Regenwurmes beschrieben und abgebildet, welche ich mit den eben besprochenen Nervenzellen identisch halte. Jedoch Boule stellt die Zelle in seiner Beschreibung und Abbildung in der Weise dar, daß ein Fortsatz dünner, während der andre dicker ist. Boule beschreibt weiter (11, S. 447, Fig. 13) von der Wurzel des Seitennerven der oben besprochenen Zellen ähnliche Zellen, diese sind jedoch ebenfalls mit einem dünneren und mit einem dickeren Fortsatze abgebildet. Außerdem zeichnet er in beiden Fällen eine gitterartige Neurofibrillenstruktur in den Zellen. Ich habe angegeben, daß die Neurofibrillen in diesen Zellen nie Gitter bilden, sie durchsetzen einfach die Zelle in der Längsrichtung, und beide Fortsätze sind in einen gleich dünnen Faden ausgezogen. Die abweichende Beschreibung von Boule kann ich damit erklären, daß er gewiß schief geschnittene Zellen geprüft hatte, in welchem Falle er nur den einen Fortsatz in seiner ganzen Länge zu sehen vermochte; da das entgegengesetzte Ende der Zelle jedoch schief geschnitten war, konnte er die lange, dünne Fortsetzung des andern Fortsatzes nicht mehr sehen. Nach Boule ist ferner der dickere Fortsatz nach dem Centrum, während der dünnere nach der Peripherie gerichtet. Aus diesem Grunde wollte Boule die Theorie von Lenhossék (30) über die physiologische Bedeutung der Zellfortsätze und der Neurofibrillen in dieser Hinsicht bezweifeln, daß der Zellfortsatz in seinem Weiterwachsen Hindernisse

überwinden muß. Die Zelle sollte demnach gegen diese Richtung, in welcher sie stärkere Hindernisse findet, mit dickerem und mit stärker bewaffnetem Fortsatze ausgerüstet sein. Dagegen ist nach Boule der stärkere Fortsatz der Zelle nach dem Centrum gerichtet, in welcher Richtung sie unzweifelhaft einen geringeren Widerstand findet, wie der nach der Peripherie gerichtete Fortsatz, welcher dicke Muskelschichten durchdringen muß. Nach Boule ist eben dieser letztere Fortsatz gegen Erwarten dünn und schwach. Ich konnte dagegen mit meinen Untersuchungen beweisen, daß beide Fortsätze gleich dünn ausgezogen sind, ich kann daher die, auf die verschiedene Stärke der Fortsätze gegründete Folgerung von Boule nicht aufrecht erhalten, und die Theorie von Lenhossék ist von derselben nicht berührt.

3. Die Ganglienzellen des Centralnervensystems.

Ich habe schon die Ganglienzellen hinsichtlich der Zahl ihrer Fortsätze besprochen, jetzt sehen wir, daß in den verschiedenen Regionen des Centralnervensystems die Ganglienzellen in verschiedenen Formen zu finden sind.

Die oberflächliche Schicht des Gehirns ist größtenteils mit kleinen, runden oder spindelförmigen, bipolaren Zellen ausgefüllt. Man findet diesen Zellen ähnliche, jedoch größere Zellen auch in dem Innern des Gehirns, welche mit der Ramónschen Methode in sehr verschiedener Weise gefärbt sind. In dem inneren, an die Faserbündel grenzenden Teil der Gehirnrinde sind große, birnförmige Zellen mit langem Fortsatze. Im Innern des Gehirns findet man verlängerte spindelförmige, bipolare Zellen und in der vorderen Partie liegen sehr kleine, verlängerte, birnförmige Zellen, deren Fortsätze zu dem Schlundconnectiv gerichtet sind. In der Mitte der vorderen Partie des Gehirns ist eine große, unpaare, multipolare Zelle. Die charakteristischen Schaltzellen des Schlundconnectivs sind ellipsenförmig verlängert und sie tragen an einem Pole mehrere verästelte, dendritenartige Fortsätze. Ähnliche Zellen sind auch in der vorderen Mediangruppe des Unterschlundganglions vorhanden. Die lateralen Gruppen des Unterschlundganglions sind größtenteils von kleineren und größeren birnförmigen Zellen zusammengesetzt. In der Mitte der vorderen Seite liegt eine große, unpaare, bipolare Zelle, welche ihre Fortsätze links und rechts in die vordere Commissur entläßt.

In den Zellgruppen der Bauchganglien sieht man größtenteils birnförmige Zellen. Oft findet man spindelförmige, bipolare Zellen, welche einen Fortsatz in die vordere oder in die hintere Commissur, den andern in den Nervenstamm entlassen. In der Mitte der vorderen Seite liegt

eine große unpaare Zelle, von welcher ein Fortsatz hinterwärts zu den Kolossalfasern geht, während je ein Fortsatz links und rechts in die centrale Fasermasse zieht. In der Gegend der vorderen Commissur sieht man rundliche oder spindelförmige bipolare Zellenpaare, deren einer Fortsatz zwischen den Commissurfasern läuft und der andre hinterwärts gerichtet und die Fasern der vorderen Commissur kreuzend in der Fasermasse verästelt ist. Bei dem Austritt der Nervenstämme sind sowohl in den Bauchganglien, als auch in dem Unterschlundganglion birnförmige und multipolare motorische Zellen vorhanden, welch letztere viele, reichlich verästelte, dendritenartige Fortsätze besitzen, während ihr Hauptfortsatz sich in dem Nervenstamme fortzieht.

Die feinere Beschaffenheit der Ganglienzellen habe ich an Eisenhämatoxylinpräparaten ähnlich gefunden wie sie Apáthy (1) beschrieben hat. Die Zellen entbehren einer besonderen Membrana propria, sie sind nackt in der lockeren feinfaserigen Grundsubstanz eingebettet, jedoch werden sie von den Gliafasern umsponnen, welche um die Zellen eine lose, nicht eng anliegende Gliahülle bilden. Die umspinnenden Gliafasern dringen nie in die oberflächliche Zone der Zelle ein, wie ich sowohl mit Eisenhämatoxylin- als auch mit Ramónschen Präparaten beweisen kann. Die äußerste Zone des Zellkörpers ist die äußere Chromatinzone. Sie ist mit von Eisenhämatoxylin stark geschwärzten chromatischen Körnern gefüllt, welche den Flemming-Nisslschen Körpern der Ganglienzellen der Wirbeltiere entsprechen. Sie werden auch mit der Nisslschen Methylenblau- und mit der Thioninfärbung von Lenhossék und mit andern basischen Anilinfarben stark gefärbt, die chromatischen Körner verhalten sich also ganz dem Tigroid ähnlich. Nach der Chromatinzone folgt eine helle, fein wabige Protoplasmazone, welche nicht vacuolisiert ist. Um den Kern sieht man wieder eine innere Chromatinzone. Bei dem Austritt des Fortsatzes sind die Chromatinkörner dichter gelagert. Der große, runde Zellkern, welcher meist excentrisch gegen den Fortsatz verschoben liegt, ist mit einer scharfen Kernmembran umgeben. In dem Innern des Kernes sieht man hellen Kernsaft und achromatische Balken, in welchen Chromatinkörner zerstreut sind, während in der Mitte, ein wenig excentrisch, der ziemlich große Nucleolus liegt.

Nunmehr wenden wir uns zur Analyse der Neurofibrillenstruktur der Ganglienzellen, welche ich mit Hilfe der Simarro-Ramón y Cajalschen Versilberungsmethoden und der Apáthyschen Nachvergoldungsmethode untersucht habe. Nach der Silberimprägnierung angewendet, lieferte die Nachvergoldungsmethode nach Lenhossék (29) die schönsten Resultate.

Die Ganglienzellen erscheinen nach der Versilberung in ihrer Struktur und in der Verteilung der Neurofibrillen sehr variabel. Das Neurofibrillengitter ist einmal stärker, das andre Mal schwächer gefärbt, die Fibrillen sind einmal so blaß gelbbräunlich, daß sie kaum zu sehen sind, dagegen sind das andre Mal sowohl die Fibrillen als auch das Somatoplasma ganz dunkel gefärbt. Manche Zellen sind so stark imprägniert, daß man in ihnen keinerlei Struktur zu unterscheiden vermag, in der Zelle ist alles schwarz verhüllt. Manche Zellen sind nur in ihrer Hälfte schwarz gefärbt, während die andre Hälfte hell geblieben ist, und ist hier auch das Neurofibrillengitter gut zu sehen (Fig. 7). Ich bemühte mich, in meinen Abbildungen diese verschiedenen Grade der Tingierung mit verschiedenen Nuancen darzustellen.

Es sind schon mehrere Untersuchungen über die Frage vorhanden, von welchen Umständen die verschiedene Färbung der Zellen beeinflußt wird. So hatte Kowalsky (24, 25) in seinen Experimenten die Wirkung der Kälte, des Hungers und der Ermüdung untersucht. Er hatte die Erfahrung gemacht, daß alle diese Umstände die Färbung der Zellstruktur in großem Maße verändern. Nach der Wirkung der Kälte werden die Neurofibrillen stärker imprägniert, infolge des Hungers sind sie erst hypertrophisiert und das Gitter ist in eine peripherische und in eine perinucleäre Zone gesondert und nach einem dauernden Hunger werden die Fibrillen nur sehr blaß gefärbt. Infolge der Ermüdung bilden sich große Lakunen im Somatoplasma der Ganglienzellen, welche von den Fäden des Neurofibrillengitters abgegrenzt sind. Nach den Untersuchungen von Boule (9, 10) beeinflußt die Beschaffenheit des Terrains, in welchem die Regenwürmer leben, die Imprägnierung entweder in günstiger oder ungünstiger Weise. Im allgemeinen sind die Ganglienzellen derjenigen Tiere, welche in einem sauren Terrain gesammelt sind, für die Imprägnierung günstiger; die saure Reaktion macht die chemische Zusammensetzung der Zellen für die Imprägnierung günstiger. Aus der Beobachtung, daß die Zellen in einem und demselben Schnitte entweder stärker oder schwächer, manche Zellen sogar überhaupt nicht imprägniert sind, wird von Boule gefolgert, daß die Zellen je nach ihrem verschiedenen funktionellen Zustande eine verschiedene chemische Konstitution besitzen, welche für die Imprägnierung das eine Mal günstiger, das andre Mal ungünstiger ist.

Ich hatte schon vorher die Gelegenheit, an mehreren Stellen meine Ansicht zu erklären, daß die dunklere oder hellere Färbung der Neurofibrillen von der der Silberimprägnierung vorhergehenden Fixierung abhängig ist und daß es zur vollständigen Dunkelfärbung des Neurofibrillen-

gitters unerläßlich ist, daß das Gitter vorher einer guten, geeigneten Fixierung unterworfen sein sollte (40, 41). Die Imprägnierung gibt nur von gut fixierten Neurofibrillen ein treues Bild. Ich habe in Silberpräparaten das Bild andrer Gewebe, namentlich des Darmepithels mit den Ganglienzellen verglichen und habe die Erfahrung gemacht, daß die Ganglienzellen ein vollständiges Bild nur dann darboten, wenn die Struktur der übrigen Gewebe gut fixiert erschien. Das Neurofibrillengitter der Ganglienzellen des Regenwurmes wird mit den BOULEschen (9, 10) essigsäurehaltigen Flüssigkeiten am besten fixiert. Ich konnte übrigens in meinen Präparaten dieselben, von dem Normalen in hohem Grade abweichenden Zellstrukturen auffinden, welche von KOWALSKY (24, 25) nach verschiedenen experimentellen Eingriffen beschrieben sind, obgleich ich normale Tiere untersucht hatte. Ich ziehe aus meiner Beobachtung die Folgerung, daß diese deformierten Zellstrukturen unter der Einwirkung der Fixierung entstanden sind. Ich werde dieses noch näher erörtern.

APÁTHY unterscheidet, wie bekannt, in den Ganglienzellen des Blutegels zwei Typen (1), in einen, den Typus G, reiht er die großen, in den andern, den Typus K, die kleineren Ganglienzellen ein. Der Körper der Zellen des Typus G ist mit dem Neurofibrillengitter vollständig und diffus umsponnen, während das Neurofibrillengitter der Zellen des Typus K in eine äußere oberflächliche — perisomale — feinfädige Zone und in eine innere — perinucleäre — grobfädige Zone gesondert ist. Zwischen den zwei Zonen sieht man helles Somatoplasma, in welchem radiäre Fibrillen ziehen, welche die beiden Zonen miteinander verbinden. Das Außengitter setzt sich in zarten Fibrillen fort, welche in der Oberfläche des Zellfortsatzes laufen; vom Binnengitter läuft eine dicke Fibrille im Achsenteil des Fortsatzes. APÁTHY betrachtet die vorige für zellulipetal, die letztere zellulifugal leitend. In den Zellen des Typus K sind nachher die zwei verschiedenen Arten der leitenden Fibrillen in demselben einzigen Fortsatze vereinigt. Dieser Typus der Ganglienzellen kommt nach APÁTHY bei *Lumbricus* nicht vor (1, S. 620). In den Ganglienzellen sind die ein- und austretenden Fibrillen nicht in demselben einzigen Fortsatze vereinigt, das Neurofibrillengitter der Zelle ist nicht in zwei Zonen gesondert, sondern umspinnt vollkommen das Somatoplasma, ohne mit dem Zellkern in irgendwelches Verhältnis zu kommen. In dieser Hinsicht sind die Ganglienzellen des *Lumbricus* den Ganglienzellen der Wirbeltiere sehr ähnlich.

BOULE (10) hatte in seiner früheren Mitteilung nachgewiesen, daß in den Ganglienzellen des *Lumbricus* solch ein Neurofibrillengitter

vorhanden ist, welches in der Oberfläche der Zelle und um den Kern dichter, während zwischen den zwei dichten Zonen es lockerer ist (S. 48). Boule bemerkt (S. 50), daß er sehr selten auch solche Zellen gefunden hat, in welchen die Fibrillen der perinucleären Zone dicker gewesen sind, also in gewisser Hinsicht den motorischen Zellen des Typus K des Blutegels ähnlich.

Ich habe mich schon früher für die Frage interessiert, ob die Zellen des Typus K von Apáthy auch im *Lumbricus* vorhanden sind? Ich habe in einem früheren Artikel (40) beschrieben, daß in den Bauchganglien mehrerer Lumbricidenarten dem Zellentypus K vollkommen ähnlich gebaute Zellen zerstreut sind, und auf Grund dieses Befundes habe ich die Ganglienzellen des Regenwurmes in drei Typen geteilt: 1. birnförmige Zellen mit diffusem Gitter; 2. multipolare Zellen mit diffusem Gitter; 3. birnförmige, dem Typus K-Zellen ähnliche Zellen. Ich habe hervorgehoben, daß man in der richtigen Beurteilung der Struktur der Zellen des Typus K auf die Einstellung mit der Mikrometerschraube sehr zu achten hat. Stellt man das Objektiv hoch, auf die Oberfläche der Zelle ein, so sieht man das Flächenbild des die Oberfläche der Zelle diffus umspinnenden Perisomalgitters, stellt man dagegen das Objektiv tiefer, auf den optischen Querschnitt der Zelle ein, so sieht man das Durchschnittsbild der Außenzone, ferner die radiär verbindenden Fibrillen und das Flächenbild des Perinucleargitters. In meinen Abbildungen habe ich diese zwei verschiedenen Einstellungen dargestellt.

Ferner gelang es mir im Nervensystem der Lumbricide *Archaeodrilus dubiosus* (Örley), sowohl vom Gehirn, als auch von den Bauchganglien den Zellen des Typus K Apáthys vollkommen ähnliche Zellen nachzuweisen (42), und zwar sowohl mit Hilfe der Ramónschen Versilberungs- als auch der Apáthyschen Nachvergoldungsmethode (S. 75, Fig. 18 und Taf. I, Fig. 4 *e*).

Boule stellt in seiner neuen Mitteilung (11) bei *Lumbricus* ebenfalls das Vorhandensein dieser Ganglienzellen mit gesondertem Neurofibrillengitter fest, und er zeichnet die Zellen, wie ich schon früher in meinem zitierten Artikel (40) getan hatte, in höher und tiefer eingestellten optischen Ebenen (S. 434, Fig. 4 u. 5). Boule bemerkt ferner, daß er in den verschiedenen Zellen so verschiedene Typen der Neurofibrillengitter nachweisen konnte, daß diese außer der Grenze jeder morphologischen Klassifizierung liegen, und es ist nur schwer möglich, die Zellen in so streng umschriebene Typen einzureihen, wie ich in meinem zitierten Artikel (40) getan hatte. Ich kann auch selbst bestätigen, daß die Neurofibrillengitter, wie es meine weiter folgenden Beschreibungen erklären,

in den verschiedenen Zellen so variabel sind, daß unter ihnen entschiedene Typen aufzustellen kaum möglich ist, und ich beabsichtige von meiner Klassifizierung nur soviel aufrecht zu erhalten, daß im Nervensystem des *Lumbricus* neben den Zellen mit diffusem Gitter noch die Zellen des Typus K, wie zwei extreme Fälle, vorhanden sind.

Mit Hilfe der Ramónschen Silberimprägnierung und der Lenhossékschen Nachvergoldung kann ich die Struktur der birnförmigen Zellen mit diffusem Gitter folgenderweise darstellen (Fig. 8). Das Somatoplasma ist vollkommen homogen und klar, der runde Zellkern ist ebenfalls klar, irgendeine Struktur kann man im Kern nicht wahrnehmen, wie es im allgemeinen bei den Ramónschen Präparaten der Fall ist. Im Somatoplasma sieht man das Neurofibrillengitter sehr scharf und vollkommen schwarz gefärbt. In dem Achsenteil des Zellfortsatzes zieht eine einzige, scharf gegrenzte Fibrille in das Innere der Zelle. Diese Fibrille teilt sich in der erweiterten Wurzel des Fortsatzes in mehrere Äste, welche ein wenig divergierend bis zum Kern laufen und im supranucleären Teil der Zelle verästelnd, bilden sie ein engmaschiges Gitterwerk, welches das Somatoplasma vollkommen und diffus umspinnt. Das Gitter ist in jedem Teil der Zelle gleichartig, es ist nicht in verschieden dichte Zonen gesondert. Solche Zellen kommen in den lateralen Zellgruppen des Unterschlundganglions und der Bauchganglien vor.

Von diesem Typus sind manche Zellen in der Hinsicht abweichend, daß ihr Neurofibrillengitter weitmaschiger ist. Ich habe in den lateralen Zellgruppen des Unterschlundganglions öfters solche Zellen gefunden, deren lockeres, zerrissenes Gitter aus sehr weiten Maschen zusammengesetzt ist und deren Gitterfäden sehr dick gewesen sind (Fig. 9). Diese erinnern sehr an die Strukturen, welche nach Kowalsky (24) nach der Einwirkung des Hungers entstanden sind. Ich kann die von Boule (10) geschilderte Struktur an einer runden Zelle, welche neben der vorderen Commissur eines Bauchganglions liegt, darstellen. Das Neurofibrillengitter ist um den Kern sehr dicht und engmaschig, in der Oberfläche weitmaschig, und zwischen den Maschen sieht man größere, helle Lakunen (Fig. 10). Das Neurofibrillengitter mancher Zellen wurde vom Silber nur teilweise tingiert; mit diesen Zellen kann ich nachweisen, daß der Erfolg der Imprägnierung von der gelungenen Fixierung abhängig ist. Man sieht in den großen vorderen, medialen, paarigen Zellen eines Bauchganglions dunkles Somatoplasma, besonders einen dunklen Hof um den Kern (Fig. 11). In der klareren oberflächlichen Zone der Zelle ist ein regelmäßiges Gitter, welches bei dem perinucleären dunklen Hofe plötzlich, wie abgeschnitten, aufhört. Das kann ich nicht anders erklären, als daß

das Fixiermittel nur in die oberflächliche Zone der Zelle eingedrungen ist, und nur diese tadellos fixiert hat. Hier hatte auch die nachfolgende Versilberung das gut fixierte Neurofibrillengitter entsprechend imprägniert, in dem Innern der Zelle dagegen ist das Gitter schlecht fixiert gewesen, das Silber hat sich also gleichartig diffus im Somatoplasma verteilt und hat das Somatoplasma gleichartig dunkel gefärbt.

Die Zellen des Gehirns sind für die Untersuchung der verschiedenen Modifikationen der Färbung und der verschiedenen Variationen der Gitterstrukturen sehr geeignet.

Die Struktur der kleinen Rindenzellen ist eine ganz andere, wenn man sie bei einer höheren oder tieferen Einstellung untersucht. In der Oberfläche der Zelle sieht man ein diffuses Gitter, welches die Oberfläche vollkommen umspinnt. Stellt man dagegen die Linse auf den optischen Querschnitt der Zelle ein, dann sieht man die innere Gitterstruktur. Im hellen Somatoplasma befindet sich um den Kern ein inneres Gitter, welches mit radiären Fibrillen mit dem Außengitter rings herumlaufender zarter Fibrillen verbunden ist. Die im ganzen sternähnliche Struktur erinnert sehr an die Struktur der Zellen des Typus K (Fig. 12). Das Gitter der größeren, rundlichen Zellen ist ebenfalls in äußere und innere Gitter gesondert, welche mit radiären Fibrillen verbunden sind; diese letzteren übergrenzen helle Lacunen (Fig. 13). Die großen, birnförmigen Zellen des Gehirns sind ebenfalls zu den Zellen des Typus K zu reihen (Fig. 14). Ihr Somatoplasma ist vollkommen klar und homogen. Durch den Fortsatz dringen drei dickere, stark gefärbte Fibrillen in das Innere der Zelle ein. In der erweiterten Wurzel des Fortsatzes sind die Fibrillen etwas divergierend, dann teilt sich jede in zwei dünnere Äste, quer ausgedehnte Fasern kann man jedoch zwischen ihnen nicht wahrnehmen, die Fibrillen treten also in die Zelle in der Weise ein, wie dies Apáthy in der motorischen Zelle des Regenwurmes beschrieben hatte (1, S. 626). Die Fibrillen bilden im Innern des supranucleären Teiles der Zelle ein vollkommen geschlossenes, engmaschiges, von dickeren und dunkelgefärbten Fibrillen zusammengesetztes Binnengitter. Wo die inneren Fibrillen in die Zelle eintreten, zieht je eine dünne und blassere Fibrille zur Oberfläche der Zelle. Diese läuft in der oberflächlichen Zone rings herum, wird verästelt und bildet ein dünnfädiges Gitter. Dieses Perisomalgitter ist mit dem Perinucleargitter mit dünnen Fibrillen verbunden, welche durch die helle Somatoplasmazone in radialer Richtung ausgedehnt sind.

Ich muß bemerken, daß nach Kowalsky (24, 25) das lockere, grobfädige, hypertrophisierte Gitter in den Ganglienzellen der Regenwürmer,

welche unter der Glasglocke bei + 14° C bis 5—7—8 Tage gehungert haben, später sich in zartfädiges Außengitter und grobfädiges Binnengitter gesondert hatte. In der äußeren Somatoplasmazone, zwischen den radiären verbindenden Fibrillen hatte Kowalsky größere helle Lakunen beobachtet, er deutete nachher diese lakunisierte Struktur der Einwirkung der Ermüdung zu. Aus diesem Grunde konnte man die Folgerung ziehen, daß das eben geschilderte Gitter nicht der intakten, richtigen Struktur entspricht, sondern man nur die diffuse, gleichartige Gitterstruktur für richtig betrachten kann. Die Lakunen, welche von Kowalsky beschrieben sind, habe auch ich selbst in den eben geschilderten Zellen beobachtet, obgleich ich nicht Tiere untersucht habe, welche vorher irgendeiner experimentellen Einwirkung ausgesetzt worden sind. H. Erhard (14) hat die Struktur der Ganglienzellen mit Hilfe normaler Fixierungen und Färbungen untersucht und fand, daß das normale Vorkommen von Vacuolen in Ganglienzellen mindestens sehr zweifelhaft, für die von ihm untersuchten Objekte wenigstens ganz unwahrscheinlich ist. Aus diesem Grunde bin ich auch geneigt anzunehmen, daß das lakunisierte Protoplasma und das gesonderte Neurofibrillengitter nur ein Kunstprodukt der mangelhaften Fixierung darstellt. Die oberflächliche Schicht des Somatoplasmas wurde nämlich durch die Fixierungsflüssigkeit aufgeschwellt; infolge dieser Anschwellung sind Lakunen gebildet, welche den oberflächlichen Teil des diffusen Neurofibrillengitters auseinanderzogen. Ferner sind hier die Neurofibrillen mangelhaft fixiert worden, und infolgedessen sind sie mit dem Silber nur blaß gefärbt. Später bin ich jedoch davon überzeugt worden, daß die essigsäurehaltigen Fixierungsflüssigkeiten Boules die Ganglienzellen tadellos zu fixieren vermögen, ferner stellen sie die Struktur der übrigen Zellen, namentlich der schwer fixierbaren Darmepithelzellen, dem richtigen Zustande entsprechend dar. In meinen Präparaten, welche nach Boule fixiert, mit Silber imprägniert und nach Lenhossék nachvergoldet wurden, konnte ich nachher mit Hilfe der Apáthyschen Nachvergoldung, im Somatoplasma der birnförmigen Zellen des Gehirns und in manchen großen, birnförmigen lateralen Zellen der Bauchganglien keine Lakunen wahrnehmen, die Neurofibrillenstruktur habe ich jedoch jedenfalls als ein gesondertes Gitter gefunden. Diese Struktur, welche der der Zellen des Typus K der Hirudineen vollkommen ähnlich ist, muß als die richtige der betreffenden Zellen betrachtet werden.

Ich habe eine große laterale Zelle von den Bauchganglien abgebildet, welche dem Zellentypus K Apáthys besonders ähnlich ist (15 Fig.). Ich habe in meiner Abbildung außer der Neurofibrillenstruktur nur die Kern-

struktur dargestellt, die Beschaffenheit des Somatoplasmas habe ich außer acht gelassen. Leider wurde das Somatoplasma durch die Vergoldung etwas dunkel gefärbt, die Neurofibrillen sind jedoch tief schwarz scharf hervorgetreten, so daß man sie in einer starken Beleuchtung mit dem Zeichenapparat bis zum letzten Punkte genau und treu verfolgen konnte. In dem einzigen Fortsatze der Zelle konnte man nur die dicke, dunkel gefärbte Achsenfibrille genau sehen, die zarten oberflächlichen Fibrillen sind nur in der Nähe der Zelle scharf hervorgetreten. Diese letzteren bilden in der oberflächlichen Zone der Zelle ein dünnfädiges Perisomalgitter. Die innerste, rings herumlaufende Fibrille des Perisomalgitters ist dicker, von ihr entspringen radiäre Fibrillen, welche die helle Somatoplasmazone durchsetzen. In dieser Zone sind außer den radiären Fibrillen, welche das Perisomalgitter und das Perinucleargitter miteinander verbinden, keine Fibrillen oder sonstige Gitterteile wahrzunehmen. Das Perinucleargitter ist von dickeren Fibrillen zusammengesetzt, die Maschen sind gleichartig. Die von dem Perinucleargitter entspringenden Fibrillen vereinigen sich unter dem Kerne und setzen sich in der in dem Achsenteile des Fortsatzes fortlaufenden dicken Fibrille fort.

Ich habe in meiner Mitteilung über die Ganglienzellen der Lumbriciden (40) nach Präparaten, welche nach Lenhossék nachvergoldet wurden, von den Bauchganglien verschiedener Lumbricidenarten den oben geschilderten Zellen vollkommen ähnliche Zellen beschrieben und abgebildet. In diesen ist mit Hilfe der Einstellung des Objektivs das Außengitter und das Binnengitter genau voneinander unterscheidbar, und infolgedessen kann man von der Zelle zwei vollkommen verschiedene Bilder anfertigen. Eines, welches bei der oberflächlichen Einstellung gezeichnet wurde, stellt das diffuse Oberflächengitter dar, welches der Perisomalzone (Außengitter) Apáthys entspricht; das andre, bei einer tiefen Einstellung gezeichnete Bild stellt die verbindenden Fibrillen und das Apáthysche Binnengitter oder die Perinuclearzone dar (Fig. 16). Ich kann hervorheben, daß unter den birnförmigen Zellen neben runden, aufgedunsenen Zellen auch verlängerte schlanke Zellen vorkommen. In der Struktur des Binnengitters ist der, in Hinsicht auf das Folgende, wichtige Unterschied auffallend, daß die Maschen des Binnengitters in den runden Zellen erweitert sind, während sie in den schlanken Zellen verlängert sind (Fig. 17).

Auf Grund des vorher Gesagten kann ich daher den Satz von Apáthy nicht bestätigen, daß die für *Hirudo* charakteristische Art von Ganglienzellen, nämlich die Zellen des Typus K, bei *Lumbricus* gar nicht

vorkommt, und daß bei *Lumbricus* die ein- und austretenden Fibrillen nicht in demselben Fortsatz vereinigt sind, und daß die Neurofibrillen im Zellkörper nicht auf bestimmte Zonen beschränkt sind, sondern mit ihrem Gitterwerk das ganze Somatoplasma durchweben, ohne indessen mit dem Zellkern irgendwie in Berührung zu kommen (1, S. 620—621). Auf Grund meiner Untersuchungen betrachte ich als bewiesen, daß die Gitterstruktur in manchen großen, birnförmigen, unipolaren Ganglienzellen von *Lumbricus* dem Zellentypus K von *Hirudo* vollkommen ähnlich ist. Die Zellen des Typus K kommen daher auch im Centralnervensystem von *Lumbricus* vor.

Ich habe noch an die abnormen, in hohem Grade deformierten Zellstrukturen zu erinnern, welche ich nach der Fixierung mit dem Ramónschen Ammoniak-Alkohol und Ammoniak-Formol erhalten habe und welche ich der mit diesen Flüssigkeiten erzeugten mangelhaften Fixierung zuschreibe. Diese Strukturen sind sehr ähnlich denjenigen Strukturen, welche von Kowalsky (24, 25) nach der Einwirkung der Kälte, des Hungers oder mechanischer Reizung beschrieben sind. In den runden Zellen des Gehirns sieht man öfters solche deformierte Strukturen. Einzelne Teile der Zelle sind ganz dunkel, während an andrer Stelle statt der Neurofibrillen von dunklen Körnern zusammengesetzte Strahlen vorhanden sind (Fig. 18). Manche Zellen sind teilweise ganz dunkel, und das Neurofibrillengitter ist, wo es sichtbar ist, entweder auseinandergezogen oder zusammengedrückt (Fig. 19). In den Kernen sieht man öfters ein oder mehrere glänzende, kristalloidähnliche Gebilde, welche ebenfalls von Kowalsky nach der Einwirkung der Kälte beschrieben sind. Ich habe keinen Zweifel darüber, daß sowohl die radiär angeordneten Körner, als auch die Kristalloide im Kern durch die Fixiermittel hervorgerufene Kunstprodukte sind. Ich habe noch in den lateralen, birnförmigen Zellen des Unterschlundganglions öfters ein unregelmäßiges, zerrissenes Gitter und in den Kernen mehrere unregelmäßige eckige Kristalloide beobachtet, das Ganze war den Abbildungen von Kowalsky äußerst ähnlich (Fig. 21). Das Fibrillengitter ist in manchen antero-lateralen, spindelförmigen, bipolaren Zellen der Bauchganglien infolge des mangelhaften Fixierens gänzlich aufgelöst und in Körner zerfallen, und im Somatoplasma zerstreut sieht man diese hellbraun gefärbten Körner und gewundene, dicke Fäden. Solche Strukturen findet man besonders in den Zellen, welche der Oberfläche des Ganglions genähert liegen (Fig. 21).

* * *

Vergleicht man das in dem obigen und in dem vorhergehenden Kapitel von der neurofibrillären Struktur der Nervenzellen und der Ganglienzellen Gesagte miteinander, so ist der Zusammenklang sofort auffallend, welcher zwischen der Zellgestalt und zwischen der neurofibrillären Struktur der Zelle herrscht.

In den verlängerten schlauchförmigen Nervenzellen ziehen die Neurofibrillen einfach parallel durch, ohne irgendein Gitter zu bilden. In den runden oder birnförmigen Ganglienzellen werden dagegen verschiedene Variationen von Gittern gebildet. In diesen kann man noch weiter den innigen Zusammenhang der Zellgestalt mit der neurofibrillären Struktur feststellen, indem, wie es oben nachgewiesen wurde, das Binnengitter der runden, aufgedunsenen Zellen von weiten, das Binnengitter der verlängerten, schlanken Zellen dagegen von verlängerten Maschen zusammengesetzt ist. Auf Grund dieses innigen Zusammenhanges kann man die Neurofibrillen für die Träger und Stützen der Zellgestalt betrachten, welche von der neurofibrillären Struktur streng bestimmt wird. Sind in der Zelle nur einfach durchlaufende Fibrillen gebildet, so ist die Zelle selbst verlängert, schlauchförmig, hatte dagegen die Zelle ein korbförmiges Gitter gebildet, so ist sie selbst rundlich, und zwar ist sie mehr oder weniger aufgedunsen, je nachdem die Maschen des Fibrillengitters verlängert oder erweitert sind.

Das Gitter der Zellen des Typus K kann man besonders leicht für den Träger und die Stütze der Zellgestalt betrachten. Das Außengitter dient zur Stütze der Zellenoberfläche, in welcher Aufgabe es von dem Trajektoriensystem der radiären verbindenden Fibrillen unterstützt wird, mit dessen Hilfe das oberflächliche Gittersystem sich auf das dickfädige Binnengitter stützt. Dieses doppelte Gittersystem ist schon stark genug, um die große, gedunsene Protoplasmamasse der Zelle dauernd in unveränderter Form zu halten.

Ich benutze übrigens die Gelegenheit, den Zusammenhang zwischen der Zellgestalt und der neurofibrillären Struktur in den Schlußfolgerungen noch näher zu erörtern.

4. Die intermuskulären sensorischen Ganglienzellen.

Sensorische Elemente sind bereits bei dem Regenwurm an verschiedenen Stellen des Hautmuskelschlauches nachgewiesen. Solche sind die Sinnesepithelzellen von Lenhossék (28) und Langdon (27), die Smirnow-Retziusschen freien Nervenendigungen (37, 39) im Epiderm, die Hesseschen (22) subepithelialen Sehzellen, der basiepitheliale Nervenplexus von Dechant (12) und die verschiedenen sensorischen Zellen von

Kowalsky (25). Ich möchte auf Grund meiner Präparate gewisse große bipolare Ganglienzellen beschreiben, welche sowohl in der Nähe des Gehirns, als auch an jeder Region des Körpers zerstreut, teils in der Grenze der Ring- und Längsmuskellage, teils drinnen in der Ringmuskellage, zwischen den Ringmuskelfasern sich befinden. Die in der Grenze der zwei Muskellagen sich befindenden Zellen liegen unmittelbar neben dem Ringnerv. Diese Zellen sind im Kopfsegment rundlich, anderswo sind sie jedoch mehr verlängert (Fig. 22 u. 23). Ihre Fortsätze laufen eine Weile horizontal an der Grenze der Muskellagen oder zwischen den Ringmuskelfasern, die Fortsätze mancher Zellen sind sogar verästelt. Ein Ast des verästelten Fortsatzes durchdringt die Ringmuskellage in vertikaler Richtung und verschwindet unter dem Epiderm. In dem Protoplasma der Zelle sieht man um den Kern einen dunkleren Hof. Der Zellkern ist rund und hell. In den Fortsätzen zieht meistens eine, oder mehrere Neurofibrillen nach der Zelle, diese wird in der Zelle verästelt und umspinnt das ganze Protoplasma mit einem dichten, gleichmaschigen Gitter. Die neurofibrilläre Struktur dieser Zellen ist also der der Ganglienzellen ähnlich. In dem nach dem Epiderm ziehenden Fortsatz laufen wellige Fibrillen.

Diese Zellen, und zwar sowohl ihre Fortsätze als auch die neurofibrilläre Struktur, habe ich den Abbildungen von Kowalsky, welche er über die Hesseschen subepidermalen Sehzellen mitgeteilt hatte, sehr ähnlich gefunden. Ich möchte nicht über die Art der physiologischen Funktion der geschilderten Zellen diskutieren, ich kann daher nicht behaupten, daß sie Sehzellen wären, jedoch scheint mir soviel wahrscheinlich, daß sie wirklich sensorische Ganglienzellen sein sollen.

Die intermuskulären sensorischen Ganglienzellen sind einer besonderen Beachtung wert durch die von Lenhossék (28) über die Sinneszellen des Regenwurmes aufgestellte Lehre. Nach Lenhossék sind nämlich die von ihm in der Haut nachgewiesenen Sinneszellen mit den Spinalganglienzellen der Wirbeltiere homolog, diese letzteren sind in die Tiefe gedrungene Hautsinneszellen, von welchen man die Phylogenese der Spinalganglienzellen ableiten kann. Außerdem sind die Ganglienzellen der Retina ebenfalls mit den Spinalganglienzellen homolog. Dechant (12) nimmt eine interessante Stellung ein gegenüber dieser Lehre. Aus dem Grunde nämlich, daß die Smirnowschen freien Nervenendigungen bei manchen einen Zweifel an der Richtigkeit der Lenhossékschen Lehre erregten, sagt er, daß man jene Zellen nachweisen solle, zu welchen diese freien Nervenendigungen gehören, und welche man homolog mit den Spinalganglienzellen betrachten kann. Nach meiner Ansicht kann man

die eben beschriebenen intermuskulären bipolaren Sinnesganglienzellen mit den Spinalganglienzellen oder mit den Ganglienzellen der Retina identifizieren. Ihre Gestalt entspricht derjenigen der jugendlichen bipolaren Spinalganglienzellen, und ähnlich diesen entlassen sie einen Fortsatz gegen die Haut und einen Fortsatz gegen die sensorischen Nervencentren. Die Hautsinneszellen des Regenwurmes sind in der Wirklichkeit Epithelzellen, sie können daher nicht mit Nervenzellen identifiziert werden. Die Hautsinneepithelzellen und die intermuskulären sensorischen Ganglienzellen bilden im Hautmuskelschlauch des Regenwurmes ein ähnliches System wie die Sinneszellen und die Ganglienzellen der Retina der höheren Tiere. Es ist also schon bei solchen niedrigen Organismen, wie der Regenwurm, zur Aufnahme und Weiterbeschaffung von Empfindungen mit den receptorischen Hautsinneszellen das System der tiefer gelegenen, mit den Spinalganglienzellen homologen sensorischen Ganglienzellen in Verbindung getreten.

V. Die Struktur der centralen Fasermasse.

Nach der Theorie von Apáthy (1) dringen die von den Sinneszellen des *Hirudo* entspringenden Neurofibrillen durch die sogenannten sensorische Schläuche in das Innere der Ganglien, in das Neuropil oder in die centrale Fasermasse ein. In diese werden sämtliche sensorische Fasern zu dem, von äußerst feinen Neurofibrillen zusammengesetzten, zusammenhängenden Elementargitter verschmolzen. Die von dem Elementargitter unmittelbar entspringenden receptorischen Fibrillen treten ohne Unterbrechung in die Ganglienzellen, namentlich in die Zellen des Typus K ein, in welchen sie das Außengitter bilden. Es ist von der Struktur der Zellen des Typus K bekannt, daß das Außengitter mit radiären Fibrillen mit dem Binnengitter verbunden ist, von welchem eine dicke effektorische Fibrille im Achsenteil des Zellfortsatzes austritt, welche sich demnach durch die Nervenstämme aus dem Ganglion entfernt und in den Muskelfasern in äußerst feinen motorischen Elementarfibrillen verästelt. Die sämtlichen receptorischen und effektorischen Fibrillen sind also mittelst der zwei eingeschalteten Gittersysteme, nämlich des Neurofibrillengitters der Ganglienzellen und des Elementargitters im Neuropil in einer ununterbrochenen Kontinuität miteinander.

Es wird schon von den älteren Forschern des Nervensystems der Ringelwürmer erwähnt, daß in dem Innern der Ganglien die sämtlichen Nervenfasern und Fortsätze der Zellen zu einem zusammenhängenden Gitter verschmolzen sind. So schreibt Walter (46) 1863, Hermann (21)

1875, Vejdovsky (45) 1884 und Eisig (13) 1887. Diese Untersuchungen werden jedoch außer acht gelassen, weil ihnen nur die älteren Methoden zugrunde liegen.

In neuerer Zeit, nach den bekannten Untersuchungen von Apáthy, beschrieb Prentiss (33) im Neuropil des *Hirudo* mit Hilfe der Betheschen Methode Fibrillengitter zwischen den einzelnen Fibrillen und den Verästelungen der Achsenfortsätze der Ganglienzellen. Diese sind jedoch nicht zu einem allgemeinen diffusen Gitter verschmolzen, der gitterartige Zusammenhang ist nur in gewissen beschränkten Territorien vorhanden und nur ein Teil der Neuronen ist dadurch verbunden, während der größte Teil der Neurofibrillen frei endet und so die übrigen Neuronen ihre Selbständigkeit erhalten. Nach Krawany (26) laufen im Gehirn des *Lumbricus* die von den kleinen Rindenzellen entspringenden Fibrillen in der centralen Fasermasse parallel miteinander. Diese Fibrillen sind zwar nicht zu einem Gitter verschmolzen, Krawany hatte jedoch zwischen zwei solchen parallelen Fibrillen quere Anastomosen beobachtet, zwischen den Fibrillen sind also H-förmige Anastomosen vorhanden.

Diesen Untersuchungen entgegen sind nach Van Gehuchten (44) die Präparate von Apáthy, mit welchen er das Vorhandensein des Elementargitters beweisen will, nicht so überzeugend, wie die übrigen, sie sind nicht vergoldete Schnittserien, sondern im ganzen plattgedrückte Ganglien, mit Methylenblau gefärbt, sie sind daher zur Entscheidung solcher subtilen Fragen nicht geeignet. Zu den Worten von Van Gehuchten kann ich noch hinzufügen, daß man nicht für bewiesen annehmen kann, daß Neurofibrillen ununterbrochen vom Elementargitter in die Ganglienzellen, namentlich in das Außengitter der Zellen des Typus K eintreten, da doch die Entscheidung dieser Tatsache ein Kardinalpunkt der ganzen Frage wäre.

Boule (10) hatte in der centralen Fasermasse Anastomosen nicht gefunden, er leugnet das Existieren des Elementargitters, die centrale Fasermasse bestehe nur von durchkreuzenden Fibrillen. Boule trägt jedoch seine diesbezüglichen Untersuchungen nicht eingehender vor, Abbildungen gibt er nicht und dieses wird von ihm dadurch begründet, daß man an den Abbildungen nicht richtig beurteilen kann, ob die Neurofibrillen nur ein Geflecht oder ein geschlossenes Gitter bilden, die Abbildungen sind daher zur Entscheidung der Hauptpunkte der Frage nicht geeignet.

Aus diesen Gründen habe ich für wünschenswert gehalten, die Frage eingehend zu studieren. Ich habe an meinen Präparaten, welche mit Hilfe der Ramón- und Apáthyschen Methoden angefertigt sind, jeden

Punkt der Faserung der Ganglien eingehend geprüft und ich habe eine Lösung folgender Fragen gesucht:

1. Findet man eine Verbindung von zwei oder mehreren Neurofibrillen, oder befinden sich dieselben nur in Berührung oder Kreuzung unter einander?

2. Findet man eine Verbindung von zwei oder mehreren Ganglienzellen in der Weise, daß die Neurofibrillen, welche von dem Gitter der Zelle heraustreten, außer der Zelle zu einem Elementargitter verschmelzen, von welchem Fibrillen ununterbrochen wieder in andre Zellen eintreten?

3. Findet man ein Elementargitter in der centralen Fasermasse, in welchem sich die von den Zellen austretenden und von andern Teilen der Ganglien kommenden oder die von den Nervenstämmen eintretenden Neurofibrillen vereinigen oder sind sämtliche Fibrillen in der centralen Fasermasse nur berührt oder durchgekreuzt voneinander?

Um eine Lösung der ersten Frage zu gewinnen, habe ich die von Krawany (26) beschriebenen H-förmigen Anastomosen geprüft. Die vordere und hintere Commissur des Gehirns erscheint in den nach den Ramón-Bouleschen Methoden versilberten und nach Lenhossék vergoldeten Präparaten, wie zwei mächtige Bündel von tiefschwarzen Fibrillen. Zwischen ihnen sieht man dicke, hell rosa gefärbte Gliafaserstränge. Diese werden von sehr dünnen, jedoch tiefschwarzen, sehr scharf auffallenden Neurofibrillen durchsetzt (Fig. 24). In diesem Geflechte der Neurofibrillen kann man leicht die parallel laufenden Fibrillen auffinden, welche von den kleinen Rindenzellen entspringen (Fig. 24 *x*, *y*). In einer geringeren Vergrößerung zum Beispiel mit dem Objektiv von Reichert Nr. 7a, kann man richtig zwischen den parallel laufenden Fibrillen H-förmige Anastomosen an mehreren Stellen wahrnehmen. Werden jedoch diese Stellen mit Homogenimmersion von Zeiss Nr. 1,40 eingehender geprüft, und werden die Fibrillen mit Hilfe der Mikrometerschraube genau verfolgt abgebildet, so wird man zu einem ganz entgegesetzten Resultat kommen.

Eigentlich sind da drei gesonderte Neurofibrillen vorhanden. Zwei Fibrillen laufen parallel miteinander und diese werden von einer dritten, etwas dickeren Neurofibrille gekreuzt, die H-förmige, scheinbare Anastomose ist daher auf diese Weise entstanden. Die kreuzende Neurofibrille läuft über eine Strecke parallel mit den zwei andern, welche letzteren etwas entfernt voneinander liegen, während die kreuzende Fibrille dicht neben der einen Fibrille läuft so, daß man sie bei einer geringeren Vergrößerung nicht zu unterscheiden vermag, beide erscheinen wie eine

einzige Fibrille. Demnach wird plötzlich, fast rechtwinklig, die Richtung der dritten Fibrille geändert und die zwei parallelen Fibrillen werden von derselben gekreuzt. Ich habe in meiner Abbildung diese Durchkreuzung mit der Unterbrechung der unten laufenden Fibrille markiert. In manchen Fällen kehrt die kreuzende Fibrille wieder zurück und kreuzt von neuem die zwei parallelen Fibrillen. Ich konnte auch unter den Fibrillen des Schlundconnectivs das Vorkommen ähnlicher Kreuzungen konstatieren.

Ähnliche Täuschungen sind die Ursache, daß man auch an andern Stellen verschmolzene Neurofibrillen zu sehen glaubt, während diese doch in Wahrheit gesonderte Neurofibrillen sind. Ich kann solch einen Fall an zwei Zellen des Unterschlundganglions demonstrieren (Fig. 25). Hier tritt eine Zelle der lateralen Gruppe (1) und eine Zelle der antero-medialen Gruppe (2) in der Weise in Verhältnis zueinander, daß die Fortsätze der zwei gegenüberstehenden Zellen gegeneinander laufen. Die Neurofibrillen der Fortsätze verschwinden jedoch bald von der Ebene des Schnittes und laufen, wie man sich in dem folgenden Schnitte überzeugen kann, scharf gesondert voneinander. Die scheinbare Vereinigung der Fortsätze wird von dem Umstande verursacht, daß zwischen den zwei Zellen ein Bündel von Neurofibrillen (Fig. 25 *n*) gegen eine große, vordere, bipolare Zelle (3) läuft; diese Fibrillen sind in der Nähe der großen Zelle verästelt und geendet. Eine dicke Fibrille dieses Bündels ist zwischen den zwei gegenüberstehenden Zellen Y-förmig geteilt und ihre geteilten Äste richten sich gegen die Fortsätze der Zellen. Der eine Ast läuft eine Strecke, als wenn er drin in dem Fortsatze der medialen Zelle (2) laufe, in Wahrheit läuft er jedoch, wie ich mich mit Hilfe des Mikrometers überzeugt habe, oberhalb des Fortsatzes, und die Zelle erreichend wird er seitwärts gedreht. Diese geteilte Fibrille erzeugt auf den ersten Blick den Eindruck, als wenn sie von den zwei gegenüberstehenden Zellen ausgetreten wäre und die austretenden Fibrillen zwischen den Zellen vereinigt und in einer einheitlichen Fibrille fortgesetzt wären. In Wahrheit ist jedoch keine Verbindung irgend einer Art zwischen den zwei Zellfortsätzen vorhanden.

Bezüglich des Verhältnisses zwischen den Ganglienzellen und den von andern Stellen hinzutretenden Neurofibrillen konnte ich in dem Unterschlundganglion und in den Bauchganglien interessante Beobachtungen machen.

In dem Unterschlundganglion läuft neben einer vorderen Medianzelle ein Bündel in dunkelbraune Perifibrillarsubstanz gehüllter Neurofibrillen; dies sind die Fibrillen des von dem Schlundconnectiv eintretenden Bündels. Die Fibrillen laufen wellenförmig, voneinander

scharf getrennt, jede mit einer besonderen Perifibrillarhülle umgeben. Mit dem Neurofibrillengitter der genannten Ganglienzelle treten sie in keinerlei Verbindung ein, die Fibrillen laufen bei der Zelle fort, wie ich mich an den folgenden Schnitten überzeugt habe, und sie treten demnach in die centrale Fasermasse ein und enden dort in der Nähe der genannten vorderen Medianzelle. Man kann in der Nähe der hinteren Medianzellen ähnliche Fibrillenendigungen beobachten.

In den Bauchganglien sind einige Äste der verästelten Fibrillen der hinteren Commissur, sowie die gleichen der hinteren Seitenzellen bogenförmig abwärts geneigt, sie kreuzen die centrale Fasermasse und in der vorderen Partie des Ganglions das von dem Nervenstamm eintretende Fibrillenbündel und werden in der Nähe der vorderen Zellen verästelt. Die Verästelung der abwärts geneigten Fibrillen habe ich in der Fig. 26 neben einer vorderen bipolaren Zelle und in der Fig. 27 neben dem Fortsatze einer vorderen medianen, birnförmigen Zelle dargestellt. In dem ersten Falle geraten die verästelten Neurofibrillen in keinerlei Berührung mit den Fortsätzen der bipolaren Zelle, sondern enden verästelt in der Nähe der Zelle. In dem zweiten Falle kreuzen die Fibrillen den Fortsatz der birnförmigen Zelle, sie verbinden sich jedoch nicht mit demselben, sondern enden, wie im ersten Falle, ebenfalls in der Nähe der Zelle. Selbst die allerfeinsten Äste der verästelten Fibrillen sind nicht miteinander verschmolzen, sondern frei endend berühren sie sich höchstens. Eine Fibrille (*a*) entläßt an der mit X bezeichneten Stelle drei äußerst feine Seitenäste, von diesen wird sogar die nebenbei laufende dünne Fibrille nicht einmal berührt. An derselben Stelle wird eine dickere Fibrille von dem äußerst feinen Aste einer andern Fibrille eben nur berührt, ohne mit derselben verschmolzen zu werden. Hier kann man keine ununterbrochene Verbindung der Neurofibrillen nachweisen, obgleich die allerfeinsten Verästelungen vor Augen liegen.

Die von den Nervenstämmen eintretenden Fibrillen durchkreuzen sich entweder oder sie sind an der Eintrittsstelle Y- oder T-förmig verästelt, ohne irgendeine Anastomose zu bilden. Die Y-förmig verästelten Fortsätze derjenigen Zellen, welche sich bei der Eintrittsstelle des Nerven befinden und wahrscheinlich sensorische Zellen sind (Krawany, 26), werden ebenfalls von den eintretenden Fibrillen gekreuzt, sie sind jedoch nicht mit denselben verschmolzen.

Es liegen mir sehr interessante Beobachtungen über das Verhalten gewisser Fibrillen der vorderen Commissur vor. Diese Commissurfibrillen, welche von dem Nervenstamme in die Commissur eingetreten sind, laufen in der Mitte des Ganglions in der Nähe einer Zelle (Fig. 28). Man sieht

um diese Zelle ein korbartiges Geflecht von dicken Fibrillen, welche ich auf Grund ihrer Färbung und der Gestalt der Fibrillen für Gliafibrillengeflecht betrachte.

Ich kann auf Grund meiner Präparate entschieden behaupten, daß diese dicken Fibrillen nicht die Verdickungen oder die verdickten Enden der Commissurfibrillen sind, welche sich um die Zelle winden, sondern daß sie ein Geflecht von den Neurofibrillen vollkommen gesonderter Gliafibrillen sind.

Die neben der Zelle herziehenden Commissurfibrillen vereinigen sich nicht mit diesem Geflecht, sie erhalten dagegen ihre Selbständigkeit und laufen gesondert in der Commissur fort. Die Commissurfibrillen kreuzen demnach die Fortsätze eines medialen bipolaren Zellenpaares und endigen in der Nähe desselben verästelt.

Man hat noch die Frage näher zu erörtern, in welcher Beziehung sich diese Neurofibrillenendigungen und korbartigen verdickten Geflechte zu den von Ramón beschriebenen (34) pericellulären Nestern und den »Massues terminales« befinden.

Außer dem oben besprochenen korbartigen Geflecht konnte ich in meinen Präparaten mehrfach beobachten, daß die Enden der in der Nähe der Zellen endenden Neurofibrillen verdickt sind, einige enden sogar in einer kleinen Kugel oder in einer dreieckigen, spatelförmigen Ausbreitung (Fig. 25 u. 26). Nach Apáthy (4) sind die pericellulären Nester und die »Massues terminales« bloße Kunstprodukte. Die Zelle ist infolge der Fixierung und der Versilberung geschrumpft und so entsteht eine Rinne um die Zelle in der Grundsubstanz. Die Säfte, welche von der geschrumpften Zelle ausgepreßt sind, werden in dieser Rinne ausgefällt und erscheinen mit dem Silber geschwärzt wie die von Ramón beschriebenen »Massues terminales«.

Ich konnte in meinen Präparaten um die Zellen nie einen hellen Hof wahrnehmen, welcher von der Schrumpfung oder irgendeiner andern Ursache veranlaßt wurde. Die Grundsubstanz der Ganglien ist von der Versilberung gleichartig hell braungelb gefärbt und von diesem ist das dunklere Somatoplasma und das tiefschwarz imprägnierte Fibrillengitter der Ganglienzellen scharf hervorgetreten. Zwischen der Zelle und der Grundsubstanz konnte ich keine Rinne wahrnehmen, wodurch bewiesen ist, daß meine Präparate gut fixiert und die Zellen nicht geschrumpft gewesen sind.

Nach Ramón (34) sind die »Massues terminales« an die Zellmembran der Ganglienzellen dicht angeheftet. Der von den Neurofibrillen dahingeleitete nervöse Reiz wird durch die »Massues terminales« dem Protoplasma und mit dessen Hilfe dem Neurofibrillengitter der Ganglienzelle vermittelt.

In meinen Präparaten konnte ich weder eine besondere Zellmembran wahrnehmen, noch auch, daß die den »Massues terminales« ähnlichen verdickten Fibrillenenden an die Zellen angeschaltet wären. Diese Verdickungen befinden sich stets in einer gewissen Entfernung von der Zelle. Sie entsprechen in Wahrheit nicht den Endigungen von Neurofibrillen, sondern, wie ich mich an meinen Präparaten überzeugt habe, sind sie schief geschnittene Fibrillen, welche an ihren Enden infolge des Schneidens zerfasert sind und welche bei der Zelle weiterlaufen. Ich kann also den von mir beschriebenen Verdickungen keine andre Bedeutung zuschreiben, als daß sie infolge des Durchschneidens der Fibrillen entstandene Kunstprodukte sind, und es ist höchst wahrscheinlich, daß die Fibrille in dem verdickten Ende nicht endet, sondern nur durchgeschnitten ist. Als Neurofibrillenendigungen sind nur die Endpunkte der allerfeinsten Äste anzusehen.

Ich kann von dem Gesagten die Folgerung ziehen, daß zwischen den Fibrillen, welche der Zelle genähert und in der unmittelbaren Nähe derselben scheinbar enden, und zwischen der Ganglienzelle selbst keine Verbindung nachweisbar ist. Die Ganglienzelle vermag nur durch die Vermittelung der von ihrem Gitter entspringenden und im Fortsatze austretenden Fibrillen mit den außer ihnen liegenden Neurofibrillen in irgendeinen Kontakt zu treten.

Aus der Zusammenfassung der vorgetragenen Ergebnisse folgt, daß man unter den Neurofibrillen, welche in den Gittern der verschiedenen Ganglienzellen entspringen und in der centralen Fasermasse verästeln und frei enden, mit Hilfe der angewandten histologischen Methoden keine ununterbrochene Verbindung, keine Verschmelzung der Fibrillen nachzuweisen vermag. In der centralen Fasermasse sind die Neurofibrillen nicht zu einem geschlossenen Elementargitter verschmolzen, welches man in seiner Struktur dem Gitter der Ganglienzellen ähnlich betrachten könnte, die verästelten Fibrillen sind nur ineinander verflochten und mit ihren Enden berühren sie sich.

Das geschlossene Neurofibrillengitter ist im Centralnervensystem nur eine Eigentümlichkeit der Ganglienzellen, es ist ausnahmslos nur in diesen nachweisbar und außer ihnen vermag man an keiner andern Stelle des Centralnervensystems ein geschlossenes Fibrillengitter zu finden. Das Neurofibrillengitter ist auf Grund der histogenetischen Untersuchungen von Held (20) sowohl in histogenetischer Hinsicht ein endogenes Eigentum der Ganglienzellen, welches außer ihnen an keiner andern Stelle des Centralnervensystems sich zu entwickeln vermag.

VI. Schlussfolgerungen.

Nach dem Koltzoffschen Prinzip besitzt jede Zelle, deren Gestalt von der Kugelform abweichend ist, ein festes Stützgerüst, mit dessen Hilfe die Zelle ihre Gestalt dauernd und unverändert erhalten kann (23). Jede Zelle ist aus einem flüssigen oder wenigstens halbflüssigen Protoplasma und einem inneren, festen Stützgerüst zusammengesetzt, von welchem die Gestalt der Zelle bestimmt und erhalten wird und welches verhindert, daß die Zelle die Kugelform wieder annimmt.

Goldschmidt (18) schildert die Struktur der Ganglienzellen und Nerven im Nervensystem von *Ascaris* nach dem Koltzoffschen Prinzip, und betrachtet die Neurofibrillen sowohl in der Zelle als auch in den Fortsätzen als ein Stützgerüst, und leugnet, daß die Neurofibrillen wie specifische leitende Elemente zur Fortleitung der Reize dienen sollten. Außerdem hatte Goldschmidt (17) in der Muskelzelle von *Ascaris* jenes Netzwerk untersucht, welches von Apáthy (2) als ein Gitter leitender Neurofibrillen beschrieben wurde. Goldschmidt hatte zwar in morphologischer Hinsicht die Untersuchungen von Apáthy in allem bestätigt, er beweist jedoch, daß hier kein leitendes Neurofibrillennetzwerk vorhanden ist, sondern daß die Fibrillen, welche die Zelle mit einer bestimmten Regelmäßigkeit umspinnen, das innere Gerüst der Zellen darstellen, von welchem die Muskelzelle nach dem Aufhören der Kontraktion in ihre Ausgangsform zurückzukehren gezwungen wird.

Lenhossék (30) betrachtet die Neurofibrillen der Nervenelemente ebenfalls als ein Stützgerüst, dessen besondere Bedeutung in der Histogenese und der Regeneration der Nervenelemente zu suchen ist. In diesen Prozessen wird nämlich der fortwachsende Achsenfortsatz mit Hilfe des Neurofibrillengerüstes mit der notwendigen Festigkeit ausgerüstet. Das neurofibrilläre Gerüst der sich entwickelnden Achsenfortsätze findet die ihm notwendige mechanische Stütze in den Neurofibrillengittern der Neuroblasten. Außerdem ist das neurofibrilläre Gerüst auch in den ausgebildeten ruhenden Ganglienzellen und Fortsätzen vorhanden geblieben und dient ihnen zur Stütze. Hinsichtlich der Reizleitung sagt Lenhossék, daß die Reize von dem Protoplasma der Ganglienzelle und von dem Neuron in seiner Gesamtheit geleitet werden und nicht von einem gewissen, specifisch differenzierten Teil der inneren Beschaffenheit desselben.

Diese neueren Ansichten werden von Bethe (6) scharf kritisiert. Nach Bethe (6) schien die Max Schultzesche Lehre von der leitenden

Funktion der Neurofibrillen vielen Physiologen bereits zu einer Zeit sehr plausibel, wo unsre Kenntnisse von der Histologie dieser Gebilde noch sehr gering waren. Seitdem sind die Kenntnisse über die Neurofibrillen durch die Untersuchungen von Apáthy und Bethe wesentlich erweitert. Trotz alledem haben die Zweifel an der Richtigkeit der Lehre von der leitenden Natur nie aufgehört und sind vor kurzem in ganz besonderer Schärfe hervorgetreten. Bethe versucht von neuem, die leitende Funktion mit der Kontinuität der Neurofibrillen und mit der Tatsache zu beweisen, daß die Perifibrillarsubstanz der Achsenfortsätze bei den Ranvierschen Einschnürungen unterbrochen wird. Er stellt die Frage in der Weise auf, daß der Reiz entweder von den Neurofibrillen oder von dem Protoplasma, bzw. der Perifibrillarsubstanz geleitet wird. Indem Bethe durch seine Experimente, besonders durch die Kompression des Nerven für bewiesen betrachtet, daß die Perifibrillarsubstanz nicht nervös zu leiten vermag, können nur die Neurofibrillen die leitenden Elemente sein.

Diesen kritischen Gedankengang von Bethe kann ich nicht ohne einige Bemerkungen übergehen. Bethe meint, daß in der Ganglienzelle und in ihrem Fortsatze nichts andres vorhanden wäre, als bloß Neurofibrillen und die Perifibrillarsubstanz. Wo er die Frage formuliert, daß entweder die Neurofibrillen, oder das Protoplasma (bzw. Perifibrillarsubstanz) das leitende Element sind, wird von ihm das Protoplasma mit der Perifibrillarsubstanz identifiziert. Ich bezweifle jedoch, daß die Perifibrillarsubstanz mit dem Protoplasma ein identischer und gleichgestellter Begriff wäre! Die Zellen- und Protoplasmastruktur ist doch vielleicht etwas komplizierter.

Die Gegenargumente Bethes kulminieren also in der Voraussetzung, daß die Perifibrillarsubstanz nicht nervös leitend sein kann. Dieses, in solcher Form, wird gewiß von niemandem zu behaupten gewagt, der, sobald es als sich um eine physiologische Funktion handelt, die lebende Zelle zum Gegenstand seines Studiums macht, und nicht das histologische Bild derselben, von welchem man nicht weiß, inwiefern es dem lebenden entspricht. Jene Annahme, daß das Protoplasma der Nervenzelle von Neurofibrillen und von Perifibrillarsubstanz zusammengesetzt ist, beruht nur auf den histologischen Präparaten, welche mit Neurofibrillenmethoden gefertigt sind! Es ist noch die Frage offen, ob auch das Protoplasma der lebenden Zelle nur aus diesen bestehe. Das versilberte oder vergoldete Präparat stellt das Plasma nicht in seiner Gesamtheit dar, und die Neurofibrillenmethoden Bethes sind eben darauf gegründet, daß von der Zelle erst alle andern Bestandteile ausgelöst werden, um das Neurofibrillengitter sichtbar machen zu können. In

den Ramónschen Präparaten kann man oft gar nichts von der ganzen Ganglienzelle sehen, als das bloße Neurofibrillengitter. Ich kann mich in dieser Hinsicht auf die Mikrophotogramme von Boule (11, S. 437, Fig. 6 u. 7) berufen. Ich konnte mich davon sogar an meinen eignen Präparaten oft überzeugen. Dementgegen hat man die Richtung mit Freude zu begrüßen, welche von H. Ehrhard (14) mit dem Ausspruch vertreten wird, daß, seit die neurologischen Spezialmethoden ausgearbeitet worden sind, die Betrachtung der Nervenzellen mit den gewöhnlichen Methoden immer mehr in den Hintergrund getreten ist. Und doch sollte — schreibt er — eigentlich die letztere die Grundlage und die Voraussetzung für das Studium der um so viel schwerer zu deutenden Nervenzellenbestandteile bilden.

Es können im Protoplasma der Ganglienzelle noch bisher unbekannte feinere Strukturbestandteile vorhanden sein, mit deren Hilfe man in der Erklärung der physiologischen Funktion weiter kommen kann. In der Hinsicht der leitenden Funktion kann man daher vorläufig mit Lenhossék einverstanden nur so viel erklären, daß die Reize von der lebenden Zelle in ihrer Gesamtheit produziert und fortgeleitet werden. Welche unter den Zellbestandteilen, die in dem mit Hilfe spezieller Methoden verfertigten mikroskopischen Präparate sichtbar sind, das leitende Element sein soll, das kann man vorläufig nicht entscheiden, weil diese feineren Strukturelemente außer der Grenze jeder physiologischen Beurteilung und jedes Experimentierens liegen.

Erklären wir von einigen Seiten die Lehre von der leitenden Funktion der Neurofibrillen.

Die Grundlage der Lehre bildet eigentlich eine Analogie: die Vergleichung der Neurofibrillen mit den Telegraphendrähten. Sogar Bethe wurde durch diese Analogie beeinflußt, wenn er mit Begeisterung sagt, daß in den Präparaten von Apáthy die Neurofibrillen tiefdunkel sich von dem ungefärbten oder nur schwach gefärbten Grunde wie die Telegraphendrähte vom hellen Himmel abheben. Bleibt man bei dieser Analogie, so hat man zu bemerken, daß seitdem durch den Marconischen Telegraph bewiesen wurde, daß zur Fortleitung des Stromes nicht unbedingt Drähte nötig sind! Will man also mit der Fortpflanzung des elektrischen Stromes die Fortpflanzung der Nervenreize vergleichen, so wird gewiß auch der letztere nicht eines drahtsystemartigen Leiters bedürfen, sondern auch auf eine andere Weise sich in dem Organismus fortpflanzen können, die vielleicht mit den physiologischen Ansichten eher vereinbar ist. Es wäre endlich an der Zeit, diese Idee des Telegraphen aus unserm Vorstellungskreise endgültig zu eliminieren!

Will man indessen den Nervenreiz mit dem elektrischen Strome und die Nervenelemente mit elektrischen Leitern vergleichen, so hat man die Grundlage der Analogie nicht in den metallischen Leitern, also in Telegraphendrähten, sondern in den sekundären Leitern zu suchen, welche während der Fortleitung des Stromes eine chemische Veränderung erleiden. Die histologischen Elemente des Nervensystems enthalten ja ein flüssiges, kolloidales Protoplasma, in welchem während der Reizleitung Konzentrationsdifferenzen auftreten. Nach der SCHIEFFERDECKER-LUGAROschen Hypothese kann man die Reizleitung mit gewissen physikalisch-chemischen Wechselwirkungen zwischen dem Protoplasma der Nervenelemente und den Neurofibrillen erläutern. Daß diese Wechselwirkungen mit einer Geschwindigkeit eintreten können, welche von der schnellen Fortpflanzung des Nervenreizes postuliert wird, bezweckt die umfangreiche Verteilung des neurofibrillären Netzes, infolge deren die Berührungsfläche der zwei Systeme kolossal vergrößert wird. Dementgegen halte ich für wahrscheinlich, daß bei der Reizleitung die physikalisch-chemischen Wechselwirkungen zwischen dem Neuron und zwischen den umgebenden Geweben eine Rolle spielen. Der äußere Reiz nämlich, welcher wie die Aktion der in dem Nervensystem sich abspielenden Reaktion wirkt, erzeugt eine Änderung in sämtlichen Zellen des Organismus. Diese Veränderung des physikalisch-chemischen Zustandes wird infolge der umfangreichen Berührungsfläche schnell auf die reichen Verästelungen der Neuronen erweitert und so wird von ihnen in den Neuronen eine Reaktion, der nervöse Reiz erzeugt. Die reiche Verästelung des Neurons vermittelt wieder den Reiz auf die umgebenden Gewebe (Muskeln, Drüsen usw.), und so wird das gestörte Gleichgewicht mittels der Reaktionsauslösung wieder hergestellt. Diese Prozesse postulieren den Kontakt von Oberflächen, welche verschiedene Konzentration besitzen und welche voneinander durch semipermeable Membranen getrennt sind. In dem Neuron und in den berührenden Geweben befindet sich ein flüssiges kolloidales Protoplasma, in welchem mit Hilfe der eintretenden Konzentrationsdifferenzen und andrer physikalisch-chemischen Veränderungen die Prozesse der Reizleitung sich abspielen können. Physiologische Prozesse und Änderungen kann man sich nur in den flüssigen, gelösten Bestandteilen des Protoplasmas vorstellen, die festen Strukturen sind dagegen bloß als ein Stützgerüst zu betrachten, wie dies bereits von KÖLLIKER betont wurde. In der Beurteilung der neurofibrillären Struktur bleibt nichts übrig, als sie ebenfalls als ein Stützgerüst zu betrachten. Von BETHE (7) wurde zwar solch eine Anwendung des KOLTZOFFschen Prinzipes kritisiert, indem nach BETHE, wie die PLATEAUschen Flüssigkeitsfiguren bewiesen, das

feste Gerüst nur in dem Falle die Gestalt des Flüssigkeitstropfens bestimmen kann, wo das Gerüst sich an der Oberfläche der Flüssigkeit befindet oder die Oberfläche berührt, das neurofibrilläre Gerüst ist dagegen stets im Innern der Zelle intraplasmatisch gelagert. Ferner ist der Oberflächendruck, mit welchem das Gerüst Gleichgewicht halten muß, ein so großer, daß zur Erhaltung des Gleichgewichts die Festigkeit der Fibrillen die des härtesten Stahles vielmals übertreffen muß. Es ist dagegen noch nicht entschieden, ob die physikalischen Gesetze in derselben Weise auch bei den lebenden Zellen zur Geltung kommen. Außerdem kann man das Protoplasma der Zellen nicht als einen homogenen Flüssigkeitstropfen betrachten; das Protoplasma ist vielmehr eine zähflüssige Substanz, welche an dem inneren festen Gerüst nach der Analogie haften kann, wie die Muskeln an den Skeletteilen haften. Die sicherste Grundlage für die Beurteilung des neurofibrillären Gerüstes bildet das, was man sehen kann, also das, was man auf Grund von morphologischen Bildern entscheiden kann. Und diese Bilder, wie ich schon vorher erklärt habe, beweisen bestimmt, daß die Gestalt der Zelle mit ihrer neurofibrillären Struktur innig zusammenhängt. In den verlängerten, spindel- oder schlauchförmigen Nervenzellen sind nur parallel herüberziehende Fibrillen, in den runden Ganglienzellen sind dagegen Gitterbildungen vorhanden. Das Binnengitter der schlanken Zellen ist von verlängerten, das der mehr aufgedunsenen Zellen dagegen von erweiterten Maschen zusammengesetzt. Das feinfaserige Außengitter der runden Ganglienzellen stützt sich ferner mittels trajektorienartiger radiärer Fibrillen auf das starke, grobfaserige Binnengitter. Die Gestalt der Zelle wird also von der Gestalt und Struktur des neurofibrillären Gitters bestimmt, das letztere ist der Träger der Zellengestalt, die Zelle wird von diesem gestützt und in ihrer Gestalt dauernd erhalten.

Zur Vergleichung kann man die Beschaffenheit des Stützgerüstes in andern Zellen, namentlich in Epithelzellen prüfen.

In den Pharynxepithelzellen des Regenwurmes wurden von Polowzow (32) längs verlaufende, gerade oder wellige, mit Eisenhämatoxylin stark gefärbte Fibrillen beschrieben. Nach Polowzow sind dies kontraktile Fibrillen. Ihre physiologische Bedeutung wird folgenderweise erläutert. Unter dem Epithel sind große Schleimdrüsen vorhanden, ihr Secret wird in die intercellulären Lücken entleert, es wird nach und nach gegen das Epithel verschoben und in den Lücken zwischen den Epithelzellen gesammelt. Zur Entfernung des gesammelten Schleimes von dem Epithel dienen die beschriebenen Fibrillen. Diese

Fibrillen sind nämlich im Ruhezustande korkzieherartig zusammengerollt. Sobald sie zu funktionieren beginnen, werden sie gerade gespannt, infolge dessen wird die Gestalt der Epithelzelle verändert, und die Zellen pressen infolge dieser Gestaltsveränderung den zwischen ihnen angesammelten Schleim aus.

Es gelang mir früher (42, 43), ähnliche Fibrillen in den Epidermzellen des Regenwurmes nachzuweisen. In meinen zitierten Abhandlungen schien mir die Erläuterung von POLOWZOW wahrscheinlich und habe ich die fibrilläre Ausrüstung der Epithelzellen, welche zur Entfernung des Schleimes von dem Epithel dient, als ein allgemeines Zellenorgan des drüsigen Epithels betrachtet. Ich versuchte sogar, aus der Gestalt der Fibrillen ihren funktionellen Zustand nachzuweisen. Ich habe nämlich neben den entleerten Drüsen wellige, ruhende, und neben den gefüllten oder halb entleerten Drüsen gespannte, funktionierende Fibrillen gesucht. Neuestens habe ich mich jedoch davon überzeugt, daß man auf Grund dessen keine bestimmte Folgerung auf die Funktion der Fibrillen ziehen kann.

Seitdem hat noch LORE MAYER (31) sich mit diesen Fibrillen beschäftigt. Sie hat diese im Pharynxepithel, im Epiderm in allen Regionen der Haut und im Epithel des Muskelmagens nachgewiesen. Die Fibrillen fehlen dagegen in den Epithelzellen des Gürtels und des Mitteldarmes, obwohl diese Epithelien mit Drüsen sozusagen überfüllt sind. LORE MAYER beweist, daß die Fibrillen nicht kontraktil sind, und hinsichtlich ihrer physiologischen Bedeutung rechnet sie sie den KOLTZOFF-GOLDSCHMIDTschen Stützstrukturen zu[1]).

Ich kann die Untersuchungen und die Auffassung von LORE MAYER auf Grund der erneuten Durchprüfung meiner Präparate vollkommen bestätigen. Ich kann jedoch noch hinzu fügen, daß man zwischen dem Stützgerüst und der Gestalt der Epithelzellen denselben innigen Zusammenhang feststellen kann, welcher zwischen der Gestalt der Nervenelemente und ihrem neurofibrillären Gerüst nachgewiesen wurde. In den cylinderförmigen Epithelzellen laufen die Fibrillen in der Länge der Zelle, sie folgen der Gestalt der Zelle streng nach, das fibrilläre Gerüst

---

[1]) Ich bemerke, daß in der Abhandlung von L. MAYER, welche im Jahre 1913 erschienen ist, meine Untersuchungen nicht erwähnt sind. Sie hebt hervor, daß es ihr in der Untersuchung auf eine kontrastreiche Färbung verschiedener Gewebe sehr ankam. Von mir wurde dasselbe Prinzip schon im Jahre 1912 (41) betont, in einer Abhandlung, in welcher ich zur Realisierung des postulierten starken Farbenkontrastes meine Färbung mit Eisenhämatoxylin und Aluminiumalizarin empfohlen habe.

ist daher auch in den Epithelzellen als Träger und als Stütze der Zellengestalt zu betrachten.

* * *

Aus der Zusammenfassung des Vorgetragenen ist festzustellen, daß zwischen der Gestalt der Nervenelemente und zwischen der neurofibrillären Struktur derselben eine inniger Zusammenhang vorhanden ist. Die Gestalt der Zelle ist etwa durch das neurofibrilläre Gerüst getragen, das Neurofibrillengerüst repräsentiert also den Stütz- und Festigkeitsapparat der Zelle, welcher zu mechanischen Aufgaben dient. Aus dem Vorgetragenen folgt selbstverständlich, daß die Neurofibrillen bei der Histogenese und Regeneration der Nervenelemente eine Rolle spielen, welche von Lenhossék (30) erläutert wurde. Die Prozesse der Reizleitung spielen sich in dem zähflüssigen, kolloidalen Protoplasma des lebenden Neurons ab, das Neuron führt in seiner Gesamtheit sämtliche nervöse Funktionen aus. Von den im mikroskopischen Bilde des Neurons sichtbaren und specifisch differenzierten Elementen kann man nicht sicher bestimmen, welches das specifische leitende Element ist. Die Neurofibrillen sind allerdings gröbere Strukturbestandteile des Protoplasmas, wenigstens in den imprägnierten Präparaten erscheinen sie als solche. Das Protoplasma hat gewiß eine viel feinere Struktur als die bisher bekannte. Zukünftige Forschungen können sogar noch nicht geahnte Strukturelemente nachweisen, welche die Lösung der Funktion weiter fördern werden.

VII. Zusammenfassung.

1. Auf dem Querschnitte der Bauchganglien von verschiedenartigen Lumbriciden sind sechs Zellengruppen zu unterscheiden.

2. Die Zellen in den zwei entgegengesetzten Seiten der Ganglien werden von der Ramónschen Versilberung im Sinne der von Apáthy nachgewiesenen Prinzipien symmetrisch tingiert.

3. In den Bauchganglien kommen außer den von Krawany nachgewiesenen Zelltypen bei dem Austritt der Nervenstämme birnförmige und multipolare motorische Zellen vor, welche ihren Fortsatz an derselben Seite unmittelbar in den Nerven entlassen.

4. Die T-förmig verästelten Fibrillen der vorderen Commissur des Gehirnganglions entspringen von den großen birnförmigen Binnenzellen.

5. Die Nervenzellen und Ganglienzellen sind voneinander verschieden, jedoch kann ich die Definition von Apáthy nicht aufrecht erhalten, weil sowohl die Ganglienzellen selbst ihre Fibrillengitter produzieren, und

dieses sich nicht von den in die Ganglienzellen hineinwachsenden Fibrillen entwickelt, als auch, weil der Definition die specifische leitende Funktion der Neurofibrillen zugrunde liegt. Die Nervenzellen sind von den Ganglienzellen hauptsächlich darin verschieden, daß sie von einem Neurofibrillengitter nicht umsponnen, sondern nur von Neurofibrillen durchsetzt werden. Die Nervenzellen beteiligen sich wahrscheinlich an der Entwicklung der Neurofibrillen im Sinne der Heldschen Auffassung.

6. Die kleinen, spindelförmigen Nervenzellen habe ich in den Ringnerven und in dem Austritt der Nervenstämme nachgewiesen. Ihre beiden Fortsätze sind gleich dick, der auf die verschiedene Dicke der Fortsätze gegründete Zweifel Boules bezüglich der histogenetischen Rolle der Neurofibrillen berührt also die Lenhossékschen Theorie nicht.

7. Die Ganglienzellen tingieren sich mit dem Silber verschiedenartig, was von der angewandten Fixierung abhängig ist.

8. Die Zellen des Typus K sind sowohl in den Bauchganglien als auch in dem Gehirnganglion vorhanden. Ihre Struktur stellt bei verschiedener Einstellung des Objektivs verschiedene Bilder dar, bei einer hohen Einstellung kann man das Außengitter, bei einer tiefen Einstellung das Binnengitter sehen.

9. Die Struktur der kleinen Rindenzellen des Gehirnganglions ist ebenfalls in ein perisomales und perinucleares Gitter gesondert.

10. Das Binnengitter der runden Ganglienzellen ist aus breiten, das der schlanken Zellen aus schmalen verlängerten Maschen zusammengesetzt.

11. Die intermuskulären sensorischen Ganglienzellen betrachte ich als den Spinalganglienzellen der Wirbeltiere bzw. den Ganglienzellen der Retina homolog.

12. Die H-förmige Anastomose der parallel laufenden Neurofibrillen im Neuropil des Gehirnganglions ist nur eine scheinbare, in Wirklichkeit besteht sie aus drei gesonderten und gekreuzten Fibrillen.

13. Die Anastomose der aus den Ganglienzellen austretenden Neurofibrillen kann ebenfalls nur eine scheinbare sein.

14. Im Neuropil berühren sich nur die Neurofibrillen untereinander, sie bilden kein Elementargitter, in dem Centralnervensystem ist ein Fibrillengitter nur in den Ganglienzellen vorhanden, welches somit in histogenetischer Hinsicht eine Eigentümlichkeit der Ganglienzellen ist.

15. Die Neurofibrillen endigen in der Nähe von Ganglienzellen nicht mit kugeligen oder ausgebreiteten Enden, sowohl diese als auch der helle Hof um die Zellen sind ein Kunstprodukt. Man kann als eine Endigung von Neurofibrillen nur die Enden der allerfeinsten Neurofibrillen ansehen.

16. Die Neurofibrillen, welche neben einer mit Gliafibrillengeflecht umsponnenen Zelle herlaufen, erhalten ihre Selbständigkeit entgegen diesem Geflecht.

17. Die Richtigkeit des Koltzoffschen Prinzips, nach welchem jede lebende Zelle aus flüssigem Protoplasma und aus festem innerem Gerüst zusammengesetzt ist, muß auch für die Nervenelemente, gegenüber der Kritik Bethes, aufrechterhalten werden. Das Stützgerüst der Nervenelemente ist ihre neurofibrilläre Struktur. Es ist in mehreren Fällen gelungen, den innigen Zusammenhang zwischen der Gestalt und der neurofibrillären Struktur der Nervenelemente nachzuweisen. Die Neurofibrillen muß man daher für den Träger und die Stütze der Zellgestalt und nicht für specifische leitende Elemente ansehen. Die Reize werden von dem lebenden Protoplasma des Neurons in seiner Gesamtheit geleitet. Welches das specifische leitende Element unter den im mikroskopischen Bilde des Neurons differenzierten Elementen darstellt, kann man nicht entscheiden, diese Entscheidung ist sogar überflüssig. Die Neurofibrillen sind nicht specifische leitende Elemente, sondern grobe stützende Gerüstbestandteile des Protoplasmas der Nervenelemente. Letzteres hat gewiß eine kompliziertere und viel feinere Struktur, deren Kenntnis vielleicht auch die Interpretation der Funktion der Lösung näher bringen wird.

Literatur.

1. Apáthy, St. Das leitende Element des Nervensystems und seine topographische Beziehung zu den Zellen. Mitteilg. a. d. zoolog. Station Neapel. Bd. XII. 1897.
2. —— Das leitende Element in den Muskelfasern von Ascaris. Arch. mikr. An. Bd. XLIII. 1894.
3. —— Erfahrungen in der Behandlung des Nervensystems für histologische Zwecke. I. Methylenblau. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. IX. 1892.
4. —— Bemerkungen zu den Ergebnissen Ramón y Cajals hinsichtlich der feineren Beschaffenheit des Nervensystems. Anat. Anz. Bd. XXXI. 1907.
5. —— Neuere Beiträge zur Schneidetechnik. Zeitschr. f. wiss Mikrosk. Bd. XXIX. 1912.
6. Bethe, A. Die Beweise für die leitende Funktion der Neurofibrillen. Anat. Anz. Bd. XXXVII. 1910.
7. —— Zellgestalt, Plateausche Flüssigkeitsfigur und Neurofibrille. Anat. Anz. Bd. XL. 1911.
8. Biedermann, W. Über den Ursprung und die Endigungsweise der Nerven in den Ganglien wirbelloser Tiere. Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. XXV. 1891.

9. Boule, L. L'imprégnation des éléments nerveux du Lombric par le nitrate d'argent. Le Névraxe. T. IX. 1907.
10. —— Recherches sur le système nerveux central normal du Lombric. Le Névraxe. T. X. 1909.
11. —— Nouvelles Recherches sur le système nerveux central normal du Lombric. Le Névraxe. T. XV. 1913.
12. Dechant, E. Beitrag zur Kenntnis des peripheren Nervensystems des Regenwurmes. Arbeiten a. d. Zool. Inst. Wien. Bd. XVI. 1906.
13. Eisig, H. Die Capitelliden. Berlin 1887.
14. Erhard, H. Studien über Nervenzellen. I. Arch. f. Zellforsch. Bd. VIII. 1912.
15. Friedländer, B. Beiträge zur Kenntnis des Centralnervensystems von Lumbricus. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XLVII. 1888.
16. —— Über die markhaltigen Nervenfasern und Neurochorde der Crustaceen und Anneliden. Mitteilg. a. d. zoolog. Station Neapel. Bd. IX. 1889—1891.
17. Goldschmidt, R. Das Skelet der Muskelzelle von Ascaris usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV. 1909.
18. —— Das Nervensystem von Ascaris lumbricoides und megalocephala. III. Festschr. f. Richard Hertwig. Jena 1909.
19. Havet, J. Structure du système nerveux des Annélides. La Cellule. T. XVII. 1899.
20. Held, H. Die Entwicklung des Nervengewebes bei den Wirbeltieren. Leipzig 1909.
21. Hermann. Das Centralnervensystem von Hirudo medicinalis. München 1875.
22. Hesse, R. Untersuchungen über die Organe der Lichtempfindung bei niederen Tieren. I—II. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXI. LXXII. 1896. 1902.
23. Koltzoff, N. Studien über die Gestalt der Zelle. I. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVII.. 1906.
24. Kowalsky, J. De l'imprégnation par la méthode à l'argent etc. Soc. de Sc. phys. et nat. de Bordeaux. 1907.
25. —— Contribution à l'étude des neurofibrilles chez le Lombric. La Cellule. T. XXV. 1909.
26. Krawany, J. Untersuchungen über das Centralnervensystem des Regenwurmes. Arb. a. d. zool. Inst. Wien. Bd. XV. 1905.
27. Langdon, F. The sense-organs of Lumbricus agricola. Anat. Anz. Bd. X. 1895.
28. Lenhossék, M. Ursprung, Verlauf und Endigung der sensiblen Nervenfasern bei Lumbricus. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXIX. 1892.
29. —— Zur Kenntnis der Spinalganglienzellen. Ebd. Bd. LXIX. 1907.
30. —— Über die physiologische Bedeutung der Neurofibrillen. Anat. Anz. Bd. XXXVI. 1910.
31. Mayer, Lore. Die intracellulären Fibrillen in den Epithelzellen von Oligochäten usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. XI. 1913.
32. Polowzow, W. Über kontraktile Fasern in einer Flimmerepithelart usw. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXIII. 1904.
33. Prentiss, C. W. Über die Fibrillengitter im Neuropil von Hirudo und Astacus usw. Ebd. Bd. LXII. 1903.
34. Ramón y Cajal, S. Une simple méthode pour la coloration éléctive du réticulum protoplasmique etc. Bibliographie Anatomique. T. XIV. 1905.
35. Retzius, G. Das Nervensystem der Lumbricinen. Biolog. Unters. Bd. III. 1892.

36. Retzius, G. Zur Kenntnis des sensiblen und sensorischen Nervensystems der Würmer und Mollusken. Ebd. Bd. IX. 1900.

37. —— Die Smirnowschen freien Nervenendigungen im Epithel des Regenwurmes. Anat. Anz. Bd. X. 1895.

38. Schiefferdecker, P. Neurone und Neuronenbahnen. Jena 1906.

39. Smirnow, A. Über freie Nervenendigungen im Epithel des Regenwurmes. Anat. Anz. Bd. IX. 1894.

40. Szüts, A. Über die Ganglienzellen der Lumbriciden. Anat. Anz. Bd. XLII. 1912.

41. —— Mikrotechnische Mitteilungen. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIX. 1912.

42. —— Etude morphologique sur l'Archaeodrilus dubiosus. Annales Musei Nat. Hungarici. T. XI. 1913.

43. —— Adatok néhány Lumbricida anatomiajához. (Beiträge zur Anatomie einiger Lumbriciden.) Állattani Közlemények. Bd. X. 1911.

44. Van Gehuchten, M. A. Anatomie du système nerveux de l'homme. Louvain 1906.

45. Vejdovsky, F. System und Morphologie der Oligochäten. Prag 1884.

46. Walter, Mikroskopische Studien über das Centralnervensystem wirbelloser Tiere. Bonn 1863.

Figurenerklärung.

Tafel VIII—IX.

Sämtliche Figuren sind mit dem Abbeschen Zeichenapparat verfertigt. Die 3. Figur ist bei einer Vergrößerung des Reichertschen Oculars 3 und Objektivs 4, die übrigen des Zeissschen Compens.-Oculars 4 und Homog. Imm.-Apert. 1,40 gezeichnet. Tubuslänge: 160 mm. Zeichenentfernung, nämlich die Höhe des oberen Ocularrandes über der Zeichenfläche: 240 mm. Die Präparate, nach welchen die Figuren gezeichnet sind, entstammen von einem mit den Bouleschen Flüssigkeiten fixierten und nach Ramón versilberten Material. Die Schnitte sind nach der Methode Lenhosséks nachvergoldet. Ausgenommen sind die Fig. 18, 19, 20 und 21, welche mit dem Ramónschen Formol-Ammoniak und die Fig. 1 und 15, welche mit dem Apáthyschen Sublimatalkohol fixiert und nach der Methode Apáthys nachvergoldet sind.

Fig. 1. Motorische Zelle bei dem Austritt des Nervenstamms.

Fig. 2. Sensorische Zellen Krawanys bei dem Austritt des Nervenstamms. n = das Fibrillenbündel des Nervenstamms.

Fig. 3. Querschnitt des Gehirnganglions. c = die kleinen Rindenzellen; p und p_1 = birnförmige Binnenzellen; l = laterale Schaltzellen; o = Schaltzellen zum Schlundringe; m = centrale unpaarige multipolare Zelle; cp = hintere Commissur; ca = vordere Commissur; n = Neuropil.

Fig. 4. Nervenzelle im Ringnerv (= n). c = Ringmuskelfasern; r = Ringnerv; l = Längsmuskelfasern.

Fig. 5 u. 6. Nervenzelle (= n) bei dem Austritt des Nervenstamms. t = Fibrillenbündel des Nervenstamms.

Fig. 7. Halb dunkel und halb hell imprägnierte Zelle aus dem Gehirnganglion.

Fig. 8. Birnförmige Zelle von der Bauchganglienkette mit diffusem Gitter.

Fig. 9. Birnförmige Zellen des Unterschlundganglions.

Fig. 10. Zelle neben der vorderen Commissur eines Bauchganglions, mit dichterem innerem und mit lockerem oberflächlichem Gitter.

Fig. 11. Zwei mangelhaft imprägnierte bipolare Vorderzellen eines Bauchganglions.

Fig. 12. Die kleinen Rindenzellen des Gehirnganglions. a—a = in Einstellung auf die Oberfläche; b = in Einstellung auf den optischen Querschnitt.

Fig. 13. Größere, runde Zelle der Rinde des Gehirnganglions.

Fig. 14. Große, birnförmige Zelle Typus K des Gehirnganglions.

Fig. 15. Zelle Typus K aus der Lateralgruppe eines Bauchganglions.

Fig. 16 u. 17. Zellen Typus K von der Lateralgruppe eines Bauchganglions. A = in Einstellung auf die Oberfläche; B = in Einstellung auf den optischen Querschnitt.

Fig. 18 u. 19. Abnormale Zellen aus dem Gehirnganglion.

Fig. 20. Abnormale Zellen aus dem Unterschlundganglion.

Fig. 21. Abnormale Zelle aus einem Bauchganglion.

Fig. 22. Intermuskuläre sensorische Ganglienzelle aus dem Kopfsegmente ($= g$), c = Ringmuskelschicht; l = Längsmuskelschicht; n = Ringnerv.

Fig. 23. Intermuskuläre sensorische Ganglienzelle aus einem Körpersegmente ($= g$). c = Ringmuskelschicht; n = Ringnerv.

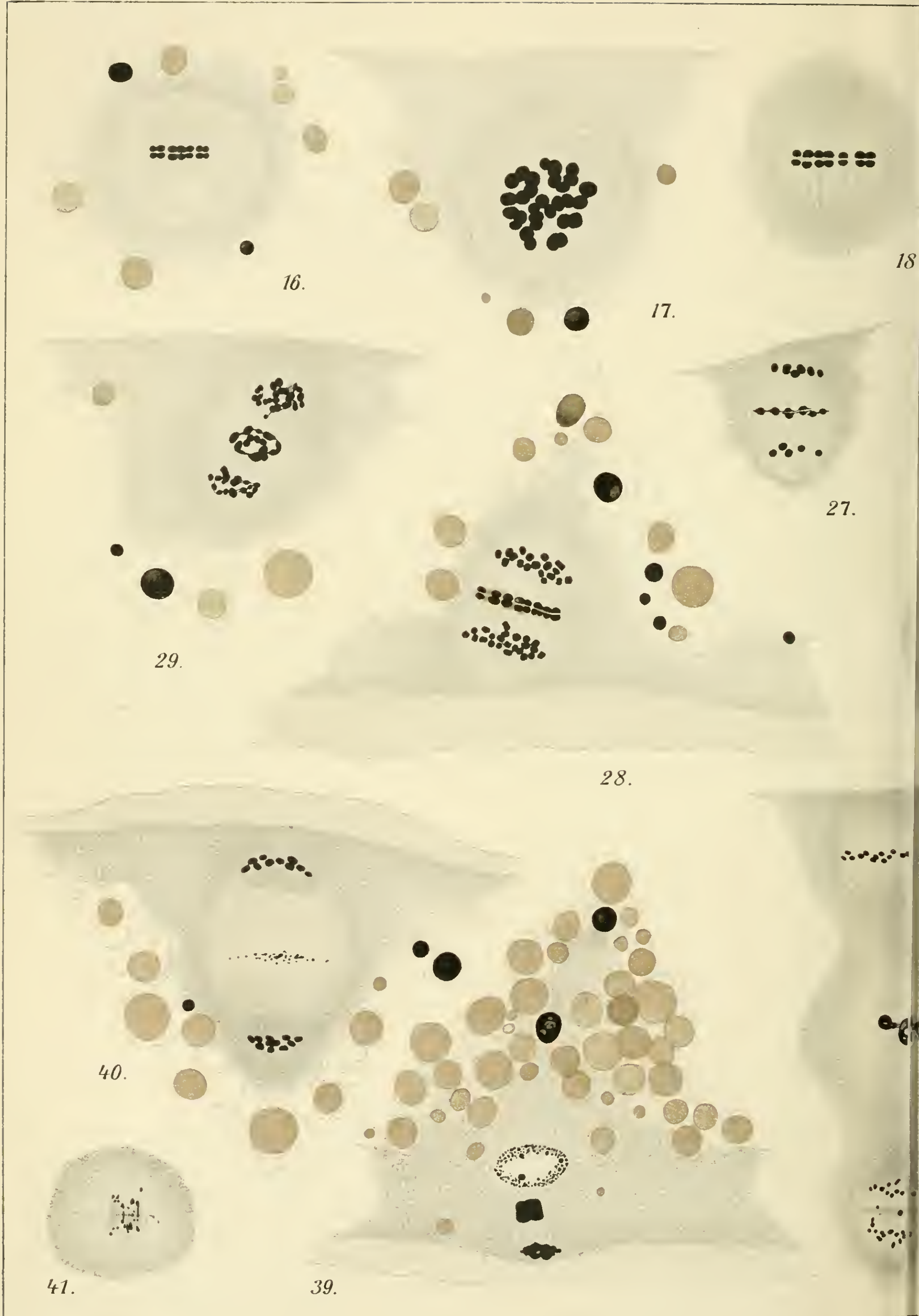
Fig. 24. Scheinbare H-förmige Anastomosen ($= x, y$) im Neuropil des Gehirnganglions.

Fig. 25. Scheinbare Anastomose zweier Zellen im Unterschlundganglion. 1 = Lateralzelle; 2 = vordere Medialzelle; 3 = Vorderzelle; n = Bündel von Neurofibrillen.

Fig. 26. Die Verzweigung der zum vorderen Rande des Bauchganglions abgebogenen Neurofibrillen ($= a$) neben einer bipolaren Vorderzelle ($= c$). n = Fibrillenbündel des Nervenstamms; x = Seitenverzweigungen.

Fig. 27. Die Verzweigung der abgebogenen Neurofibrillen neben dem Fortsatz einer birnförmigen Vorderzelle.

Fig. 28. Die Fibrillen der vorderen Commissur eines Bauchganglions neben einer mit Gliageflecht umsponnenen Zelle herlaufend.

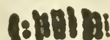


Seiler gez.

Verlag von Wilhelm Eng



19.



20.



21.



22.



26.



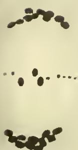
25.



24.



23.



30.



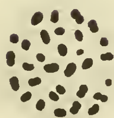
31.



32.



33.



37.









34.



36.

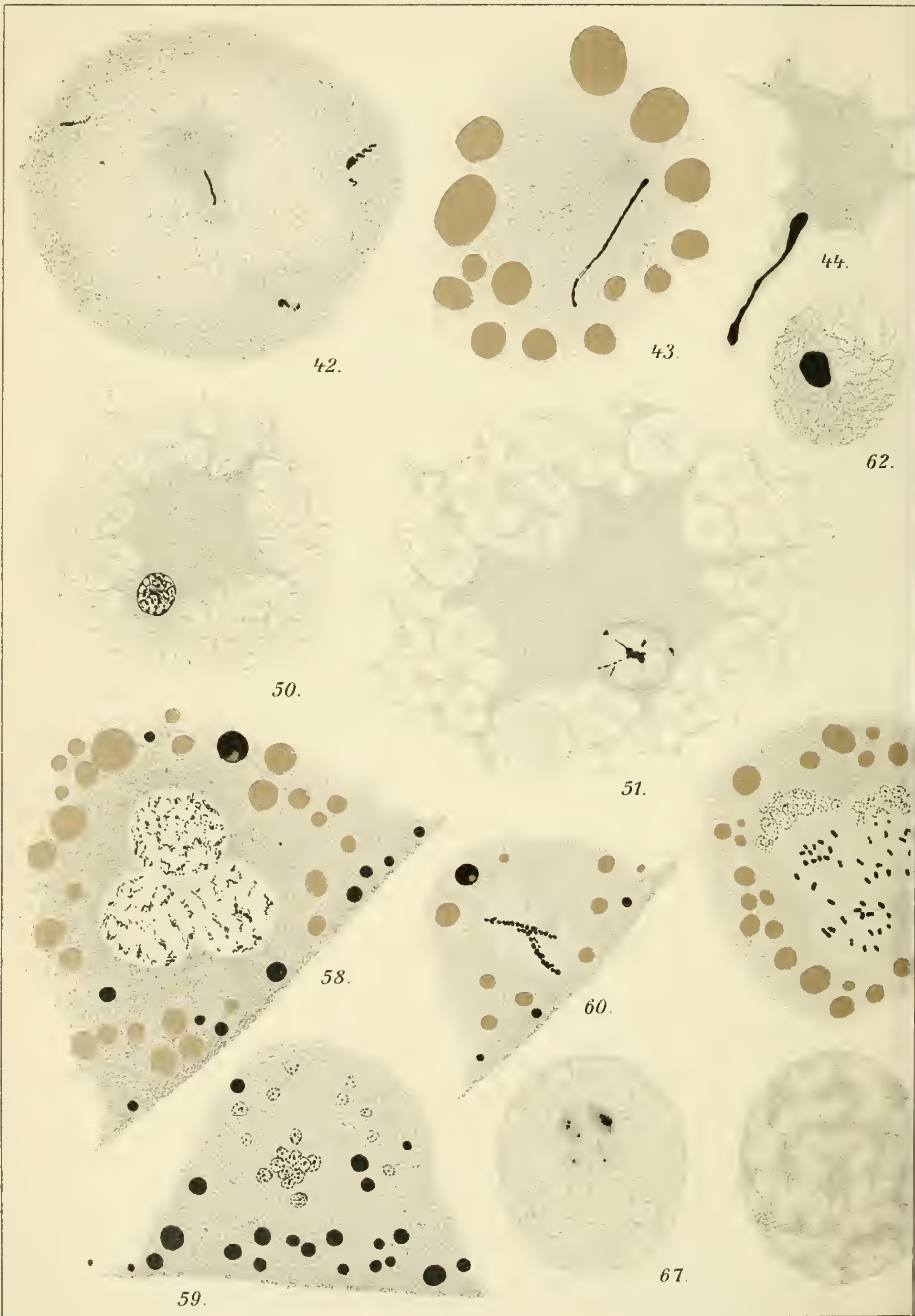


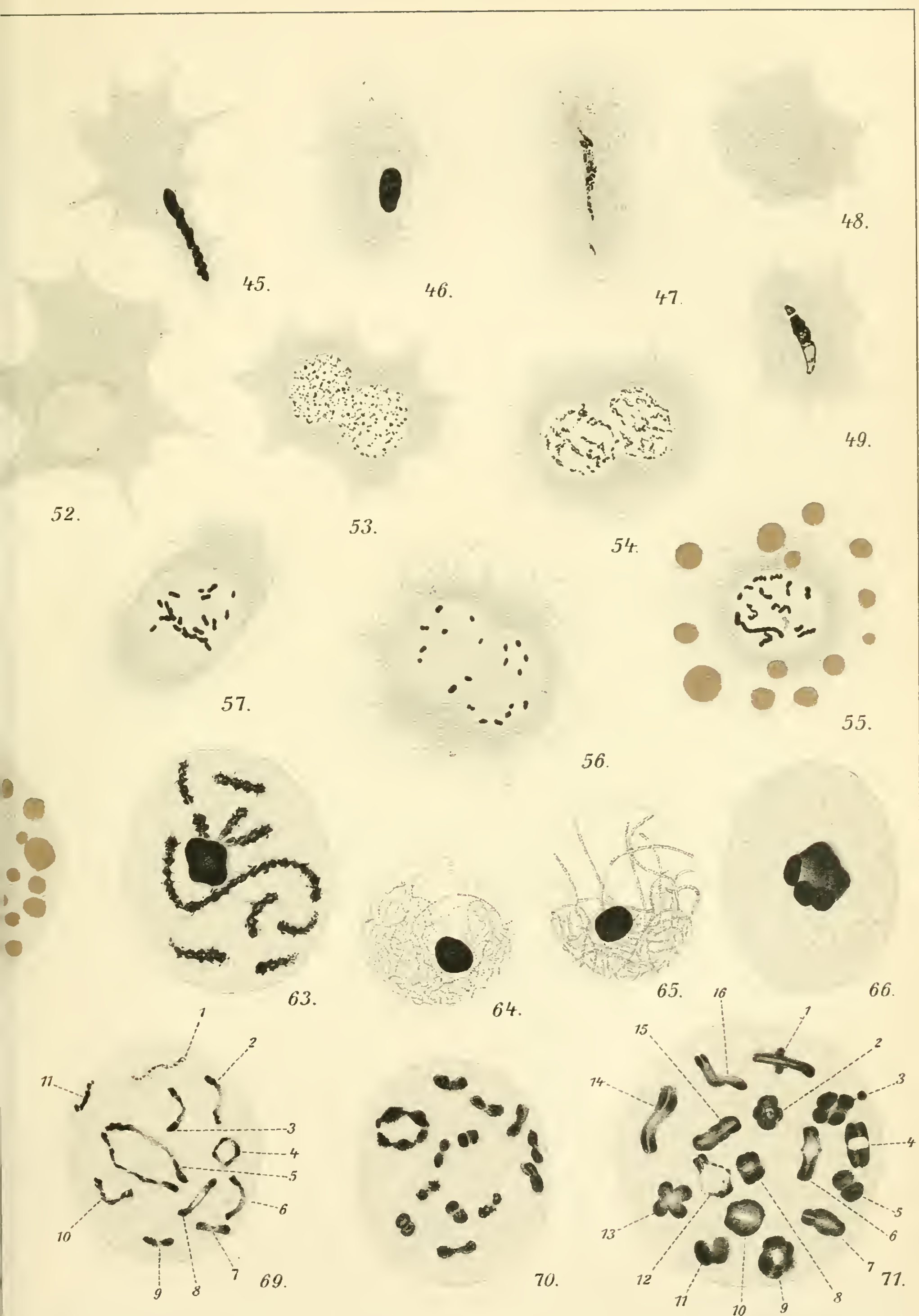
35.

38.

...nn in Leipzig und Berlin

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.


42.
43.
44.
62.
50.
51.
58.
60.
59.
67.



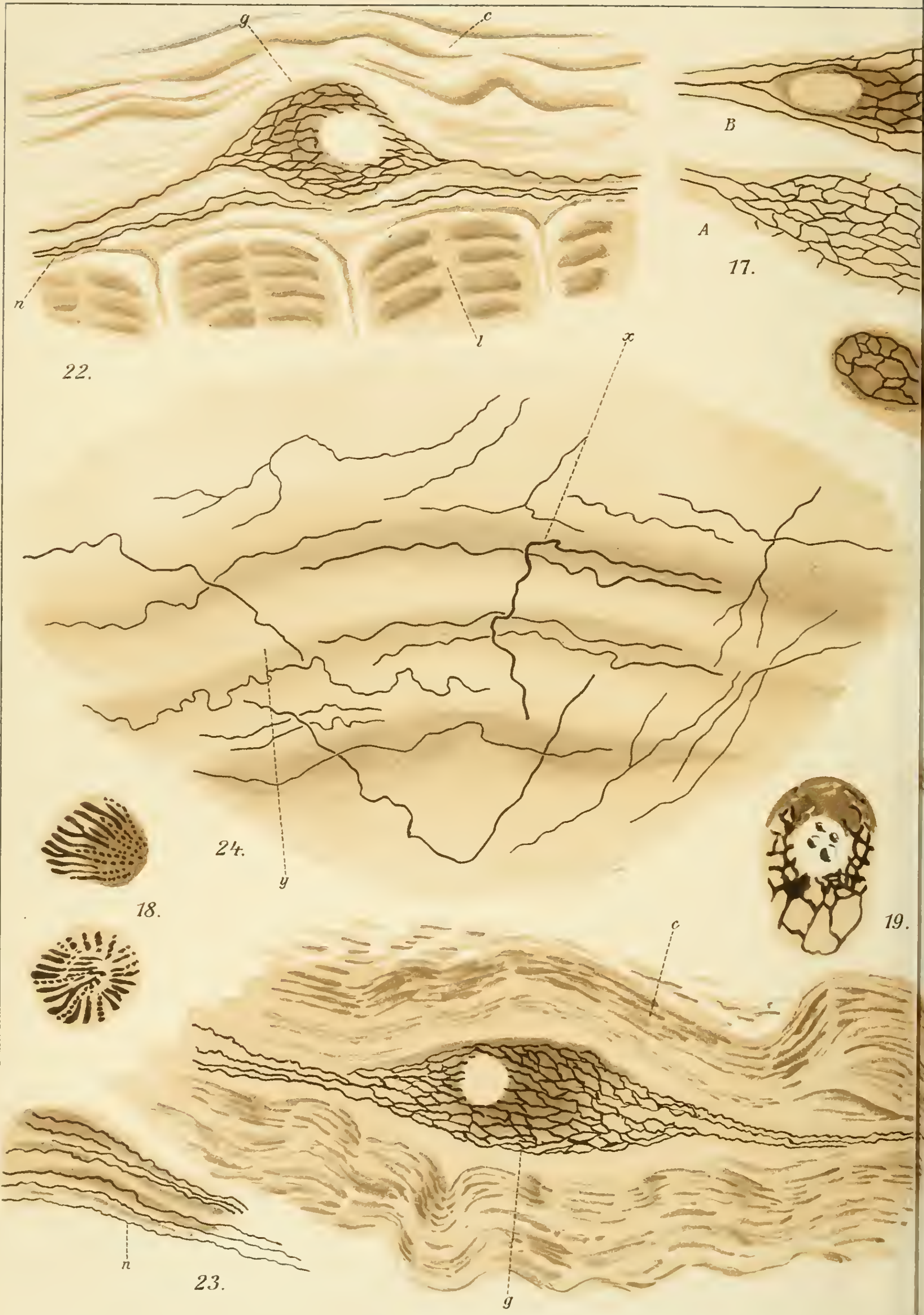
...nn in Leipzig und Berlin.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.


1.
n
l.
n
c.
12.
2.
p
p1
cp.
m
ca.
3.
13.
9.
n.
t
5.



…ann in Leipzig und Berlin.
Lith Anst. v. Johannes Arndt, Jena.


g
c
B
A
17.
n
l
x
22.
24.
y
18.
19.
c
n
23.
g



…ann in Leipzig und Berlin. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Inhalt des 2. Heftes.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



DREIZEHNTER BAND
DRITTES HEFT
MIT 9 TEXTFIGUREN UND 21 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 2. MÄRZ 1915



LEIPZIG
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1915

Preis: M. 16.—.

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Untersuchungen über die Individualität der Plastide.

Von

A. A. Sapěhin
(Odessa).

Mit Tafel X—XXVI.

Einleitung.

Die Anwendung der Methoden, welche zum Sichtbarwerden der sogenannten Chondriosomen in der tierischen Zelle dienen, auf die pflanzlichen Objekte hat dazu geführt, daß man Gebilde, die den Chondriosomen in der Form und in dem Verhalten zu verschiedenen chemischen Reagenzien und Farben ganz ähnlich sind, auch in der pflanzlichen Zelle entdeckt hat.

Demzufolge hat die Mehrzahl der Forscher, welche sich mit diesen Gebilden beschäftigten, sie als mit den tierischen Chondriosomen identisch anerkannt.

Nun hat die entsprechende Erforschung verschiedener Pflanzenteile gezeigt, daß sich im Urmeristem nur die chondriosomenähnlichen Körper befinden, welche sich während der weiteren Differenzierung der meristematischen Zellen ganz oder teilweise in die Plastiden umwandeln.

Diese Tatsache hat zu ihrer Erklärung das Erscheinen dreier verschiedener Hypothesen verursacht.

Nach der Meinung von Pensa, Lewitsky, Guilliermond, Forenbacher sind die Chondriosomen das Grundelement des Plasmas und die Plastiden der erwachsenen Zellen stammen von ihnen. Den Grund für diese Hypothese gibt der Umstand, daß sich im Urmeristem nur die »Chondriosomen« befinden und daß man allen Übergangsstadien zwischen ihnen und den Plastiden der erwachsenen Zellen begegnet[1]).

[1]) Nicolosi-Roncati, der einige braune Algen untersuchte, sieht, daß die Plastiden durch das Zusammenfließen von mehreren Chondriosomen entstehen. Leider kenne ich diese Arbeit nur nach einem Referat.

Die zweite Hypothese (SCHMIDT, MEYER?, LUNDEGÅRDH?) nimmt an, daß die »Chondriosomen« der meristematischen Zellen nichts andres als die besonders geformten und sehr kleinen Plastiden sind. Den Grund für diese Hypothese gibt derselbe Umstand ab, nämlich: da diese chondriosomenähnlichen Körper sich in die Plastiden umwandeln, so zwingt uns nichts, die ersteren für besondere Gebilde anzunehmen; es ist am einfachsten, sie bloß für sehr junge Plastiden zu halten.

Endlich sagt die dritte Hypothese (RUDOLPH), daß Chondriosomen und die Plastiden Gebilde verschiedener Ordnung, voneinander ganz unabhängig sind: im Urmeristem haben die Chondriosomen sowie die Plastiden dieselbe Form und Größe, doch vergrößern sich die Plastiden während des Wachstums der Zelle, während die Chondriosomen ihre ursprüngliche Größe im allgemeinen behalten. Den Grund für diese Hypothese gibt der Umstand, daß man in erwachsenen Zellen kleine Chondriosomen und große Plastiden nebeneinander findet, und dieses Auseinandergehen in der Entwicklung bemerkt man sehr früh, gewöhnlich gleich mit dem Anfang der Zelldifferenzierung.

Diese von RUDOLPH angegebene Möglichkeit kam auch mir in den Kopf und schien mir die wahrscheinlichste, als ich im Jahre 1911 an meine Untersuchungen über die Individualität der Plastide herangetreten war. Darin bestärkten mich (wie auch RUDOLPH): erstens die gleichzeitige Anwesenheit großer Plastiden und kleiner »Chondriosomen« in erwachsenen Zellen, und zweitens phylogenetische Erwägungen, denen von RUDOLPH analog.

Die Idee blieb jedoch ebenso hypothetisch, wie auch die beiden andern. Ihre Richtigkeit an den Samenpflanzen unbedingt zu beweisen, schien keine Möglichkeit gegeben, weil alle entsprechenden Gebilde — nach LEWITSKY, GUILLIERMOND und jetzt auch RUDOLPH — im Urmeristem chondriosomenähnlich sein sollten.

Darum habe ich mich mit entsprechenden Untersuchungen zu den Moosen gewendet, wo ich das eigentümliche Verhalten der Plastiden im Archesporium gerade damals entdeckt hatte, das mir die Plastiden von Zelle zu Zelle zu verfolgen erlaubte[1]). Diese Untersuchungen, teils an lebendigem, teils an fixiertem Material, haben mir gezeigt, daß die Plastide ihre Individualität während der ganzen phylogenetischen Entwicklung des Laubmooses behält und dabei immer viel größer als die Chondriosomen derselben Zellen ist[2]).

---

[1]) Bericht d. d. bot. Ges. 1911.

[2]) Ber. d. d. bot. Ges. 1913 (zwei vorl. Mitteilungen).

Diese Folgerungen haben mich gezwungen, einige Untersuchungen von Lewitsky u. a. zu wiederholen und auch einige neue Samenpflanzen selbständig zu untersuchen.

Die Erörterung meiner Ergebnisse bringe ich in der umgekehrten Ordnung und beginne mit den Samenpflanzen.

Zur Erledigung dieser Arbeit bräuchte ich mehrmals lebendiges Material, welches ich nur von andern Orten bekommen konnte, und dafür bin ich vielen Botanikern dankbar: an erster Stelle Herrn Prof. Dr. Bohumil Němec, der mir viel noch während meines Aufenthaltes in Prag geholfen hat, dann seinen Assistenten Herrn Dozent Dr. J. Peklo und Konservator K. Mrázek; Herrn Professor des tschechischen Polytechnikums Dr. K. Kruis bin ich für die schönen Mikrophotogramme der Synapsis in vivo, und Herrn Prof. Dr. H. Winkler (Hamburg) und Kollegen K. J. Meyer (Moskau) für die Zusendung von Hepaticae zum besten Danke verpflichtet.

Samenpflanzen.

Die Untersuchungsmethodik.

Meine eigne Erfahrung überzeugte mich, daß man die Plastiden und die Chondriosomen vermittels eines jeglichen Fixators fixieren kann. Aber während die Lösungen, welche Essigsäure oder Pikrinsäure, Alkohol, Sublimat enthalten, die Plastiden und besonders die Chondriosomen nur in seltenen Fällen und stets unvollständig erhalten, fixieren die Osmiumsäure, die Chromderivate und das Formalin, in richtiger Konzentration genommen, die obigen Gebilde fast konstant.

Bei meinen Untersuchungen bediente ich mich verschiedener Lösungen, namentlich: 1. des »starken Flemming« (mit Essigsäure oder ohne dieselbe und dabei sowohl eines unverdünnten, als auch eines zur Hälfte seiner Konzentration mit Wasser verdünnten), 2. des Formalins in Gestalt einer 10—4%igen Lösung), 3. des Kaliumbichromats (2—3%ige) wässerige Lösung), 4. einer Mischung von Formalin und Kaliumbichromat (20 Teile gewöhnlichen Formalins + 80 Teile 3%iges Kaliumbichromat [Regaud], oder derselbe »Regaud« + das gleiche Volumen Wasser, oder $^1/_3$ Formalin + $^2/_3$ 3%iges Kaliumbichromat, oder 2%iges Kaliumbichromat 50 Volumteile + 10%iges Formalin 50 Volumteile). Am besten fixierte bei mir die Flüssigkeit, welche aus Kaliumbichromat und Formalin zusammengesetzt war, besonders diejenige, welche in der obigen Zusammenstellung zuletzt angeführt worden ist. Gute Resultate gibt

auch das Formalin, aber hauptsächlich bei nicht zu großen Konzentrationen (4—5%). Starke Lösungen, besonders starke Mischungen von Osmium und Chromsäure bilden überhaupt schlechte Fixationsmittel, da sie oft die Plastiden deformieren, die Chondriosomen jedoch sehr oft ganz zerstören und Bilder, wie sie in einer großen Anzahl von Abbildungen in der ersten Arbeit von LEWITSKY[1]) und auch bei einigen andern Forschern wiedergegeben worden sind, liefern.

Es sei bemerkt, daß man fast in jeder Präparatenserie starken Schwankungen hinsichtlich der Fixationsqualität begegnet: einige Präparate erweisen sich als ganz untauglich, andre als gut oder ausgezeichnet, und zwischen diesen extremen Fällen kann man die verschiedensten Übergänge auffinden. Ein andres Mal werden ganze Serien zerstört, bisweilen einige Präparate und sehr oft nur besondere Zellengruppen oder nur einzelne Zellen.

Alles das veranlaßt zu großer Vorsicht bei der Betrachtung der Bilder und verlangt ein sehr aufmerksames Studium.

Zu diesem gesellt sich noch der Umstand, daß das Rasiermesser, indem es die Zelle durchschneidet, auch die begegneten Plastiden zerteilt, und diese Reste können jeweils Bilder von Übergangsstadien geben. Deshalb muß man hauptsächlich ganze Zellen studieren und zu ganz dünnen Schnitten nur parallel, aber nicht ausschließlich Zuflucht nehmen.

Die Fixationsdauer war bei mir auch verschieden.

Anfangs folgte ich den Anweisungen von REGAUD und andrer streng und ließ die Objekte im Fixator 7—14 Tage verweilen, aber sodann begann ich diese Frist zu verkürzen und zuletzt, ohne jeden Nachteil, bis auf 2—3 Tage. Ich bin zu der Meinung geneigt, daß auch 1 Tag sich als völlig genügend erweisen wird. Wenn dabei nicht das ganze Material sich gut fixiert, so findet das letztere auch bei langer Fixation oft statt, und die Ursache liegt hier nicht in ihrer Dauer, sondern im Gelingen oder Nichtgelingen des Anfangsmomentes. In allem andern weicht meine Methodik nicht wesentlich von der üblichen ab.

Obgleich das Alizarin + Kristallviolett auch schöne Resultate liefert, diente mir doch das Hämatoxylin besser, und in fast allen Fällen wandte ich es an.

Die Färbung führte ich wie folgt aus.

Die Schnitte verweilten in einer Eisenalaunlösung (4%) während 24 Stunden und nach einer Wasserspülung wurden sie in (1%) Häma-

---

[1]) Ber. d. d. bot. Ges. XXVIII. 1910.

toxylin auf 6—8 Stunden gebracht. Nach der Waschung wurden die Schnitte einer starken Differenzierung in einer ebensolchen Alaunlösung (2—3%) unterworfen.

In gelungenen Präparaten erweisen sich die Plastiden als dicht schwarz gefärbt (nicht selten mit bläulichem Schiller), die Chondriosomen jedoch sehen grau gefärbt aus, so daß diese Gebilde voneinander sehr leicht schon nach der Färbung zu unterscheiden sind.

Man muß nicht vergessen (und davon vergewissert man sich fast bei jedem Tritt), daß konstante Resultate fast keine einzige Färbungsmethode liefert und sich nur auf sie zu verlassen, wäre recht leichtsinnig. Deshalb muß man in zweifelhaften Fällen auch andre Angaben berücksichtigen und die einen oder die andern Schlüsse nur mit großer Vorsicht ziehen.

Beschreibung der einzelnen Repräsentanten.

Elodea canadensis Michx.

In den Meristemzellen der Stengelspitze, welche unter der Epidermis liegen, werden wir eine Menge chondriosomenartiger Gebilde finden, welche den Mitochondrien und besonders den Chondriokonten ähnlich sind, und bald lang oder kurz gestreckt sind (Fig. 1, Taf. X). Einige von ihnen sehen wie kleine Fäden aus, andre sind wieder an den Enden verdickt, an die Teilungsfiguren der Plastiden, doch nur in Miniatur, erinnernd. Einige von diesen »Chondriosomen« sind bis auf schwarz gefärbt, andre sehen jedoch grau aus, man kann aber gewöhnlich keine scharfe Grenze zwischen den einen und den andern ziehen.

Zuweilen begegnet man solchen Präparaten, in welchen ebensolche Meristemzellen, außer den beschriebenen chondriosomenartigen Gebilden noch kugelige oder eiförmige Körperchen, welche sich schwarz färben, aufweisen (Fig. 2, Taf. X). Was sie repräsentieren, kann ich jetzt nicht sagen, denke aber, daß sie auch das Resultat einer nicht völlig gelungenen Fixation sein können, da sich solche Körperchen gewöhnlich ziemlich gleichmäßig über dem ganzen Schnitt des Präparates verteilen.

Wenn wir jetzt an demselben Meristem etwas weiter von der Spitze abtreten werden, so beginnt das Bild einen andern Charakter anzunehmen. In den Zellen werden jetzt genügend klar zweifache Gebilde unterscheidbar (Fig. 3, Taf. X): einige von den letzteren bleiben dieselben »Chondriosomen« und sind grau gefärbt, andre jedoch erhalten eine Form, welche für die Plastiden charakteristisch ist (namentlich für die Leukoplasten), die im Zustande der Ruhe oder der Teilung sich befinden und dicht schwarz gefärbt sind; diese letzteren Gebilde gruppieren sich haupt-

sächlich um den Kern, während die ersteren mehr oder weniger gleichmäßig über die ganze Zelle verteilt sind. Je weiter wir vom Gipfel abrücken werden, desto schärfer wird der Unterschied zwischen diesen beiden Gebilden sein. Einige »Chondriosomen« werden im allgemeinen von derselben Größe und derselben grauen Farbe sein, die andern — die Plastiden — werden größer und behalten dieselbe schwarze Färbung.

Der äußere Anblick beider Gebilde kann sich in verschiedenen Geweben etwas ändern, so können z. B. die »Chondriosomen« bald kürzer oder länger oder ganz lang gestreckt sein, bald wie Chondriokonten oder fast ausschließlich wie Mitochondrien aussehen, — die Plastiden jedoch weisen ihre gewöhnliche Form auf, oder sie sind mehr oder weniger in die Länge gestreckt. Es war nicht meine Aufgabe diese sämtlichen Fälle zu beschreiben und ich werde nur bei der Bildung der gewöhnlichen Chloroplasten verweilen.

In den sehr jungen Blattzellen (Fig. 4, Taf. X) sind die Chloroplasten nicht groß und übertreffen diejenigen, welche sich in den unteren Schichten des Meristems befinden (Fig. 3, Taf. X) nur um ein wenig; man kann sie von den Chondriosomen mit genügender Leichtigkeit und Exaktheit unterscheiden. In den Blattzellen von mittlerem Alter (Fig. 5, Taf. X), geschweige denn in den großen ausgewachsenen Blattzellen (Fig. 6 und 7, Taf. X) sind die schwarzen Chloroplasten schon allzu sehr ausgeprägt, um sie auch nur einen Augenblick mit den kleinen grauen Chondriosomen zu verwechseln. Die Chloroplasten sind hier in allen Teilungsstadien sowohl als große als auch als ovale, bald von geringem und bald von großem Umfange sichtbar. Die Chondriosomen behalten auch hier im allgemeinen dieselbe Größe und Form, wie im Meristem, obgleich sie oft auch eine größere Dimension erreichen (Fig. 6, Taf. X). In diesen Fällen tritt ihre oft anzutreffende Form — ein an beiden Enden zugedicktes oder seltener an einem Ende zugedicktes Stäbchen — sehr scharf hervor. In solch einer Form sind die Chondriokonten erstaunlich den jungen Leukoplasten ähnlich, welche Stärke zu produzieren beginnen (siehe die Abb. von Guilliermond); hätten sie nicht ihre graue Färbung und vergliche man sie nicht mit den Chondriosomen andrer Zellen, so könnte man ohne Schwierigkeit sagen, daß das junge Leukoplasten seien, welche von dem genannten Forscher beschrieben und bildlich dargestellt worden sind.

Somit unterscheiden sich die Plastiden von den Chondriosomen in den Zellen höheren und mittleren Alters durch ihre dichte Färbung und durch ihre bedeutendere Größe sehr scharf, und man kann die einen mit den andern hier nicht verwechseln. In den Zellen der Stengelspitze (Abb. 3)

unweit von dem allerjüngsten Meristem kann man die schwarzen Plastiden von den grauen Chondriosomen noch genügend gut unterscheiden, aber in dem Meristem selbst (Fig. 1, Tab. XI) finden wir nur chondriosomenartige Körperchen und, obwohl einige von ihnen dichter gefärbt sind als die andern, kann man schon keine scharfe Grenze zwischen den »Plastiden« und den »Chondriosomen« ziehen. Deshalb können betreffs *Elodea* sämtliche drei Hypothesen ihre Berechtigung finden, welche zur Erklärung der Plastidogenese aufgestellt worden sind.

Nur die Hypothese von Schmidt muß noch die Annahme zulassen, daß ein Teil der »Plastiden« in den heranwachsenden Zellen unentwickelt bleibt.

Asparagus officinalis L.

Die Zellen des allerjüngsten Meristems (Fig. 8, Taf. X) sind mit einer dichten Masse chondriosomenartiger Körper, von sehr verschiedener Form, gefüllt: bald in der Form von Mitochondrien und Chondriomiten, oder in einer Form, welche den Chondriokonten gleich ist. Am seltensten sind »Chondriomiten« anzutreffen.

Diese chondriosomenartigen Körperchen sind ungleich gefärbt: einige von ihnen sehen schwarz aus, andre grau, und die dritten wieder nehmen in dieser Beziehung eine mittlere Stellung ein; jedenfalls kann man zwischen allen diesen Gebilden keine scharfe Grenze ziehen.

Rudolph[1]) führt für analoge Zellen fast ausschließlich die mitochondrienartigen Körperchen an, während Lewitsky[2]) in denselben Zellen Gebilde sieht, welche fast ausschließlich den Chondriokonten ähnlich sind. Meine Beobachtungen sprechen eher zugunsten der Ansicht von Lewitsky, obgleich sie sich von seinen Angaben in zweifacher Beziehung unterscheiden: ich sehe in den Meristemzellen viel mehr »Chondriosomen« und speziell »Mitochondrien«.

Somit sieht ein jeder von uns das Meristem des Spargels etwas anders, und das wird am wahrscheinlichsten durch zwei Ursachen bedingt: erstens dadurch, daß die uns interessierende Form einigen Variationen unterliegen kann, je nach dem Alter, den Lebensbedingungen und der Wachstumsschnelligkeit des Individuums, und zweitens je nach den Fixationsbedingungen und der Natur der fixierenden Flüssigkeit. In dieser Hinsicht habe ich einige Beobachtungen gemacht, doch sind keine systematischen Untersuchungen in dieser Richtung von mir ausgeführt worden.

---

[1]) K. Rudolph: Ber. d. deutsch. bot. Ges. XXX. 1912.

[2]) G. Lewitsky: Ebd. XXVIII. 1910.

Etwas niedriger (Fig. 9, Taf. X) beginnen wir ganz klar zwischen den dünnen grauen, lang oder kurz gestreckten Chondriokonten, welche über die ganze Zelle gleichmäßig zerstreut sind, und den schwarzen abgerundeten biskuitartigen Plastiden, welche besonders in der Nähe des Kerns lagern, zu unterscheiden. Noch niedriger, aber doch noch unweit vom Gipfel tritt dieser Unterschied zwischen den Chondriosomen und den Plastiden so stark hervor, daß er schroff in die Augen fällt (Fig. 10, Taf. X). Die Plastiden werden jedoch hier viel größer als die Chondriosomen und sind bedeutend intensiver als diese letzteren gefärbt.

Derselbe Unterschied tritt in den erwachsenen Zellen der Rinde (Fig. 11 und 12, Taf. X) oder des Blattes (Fig. 13, Taf. X) noch deutlicher hervor.

Wir sehen hier große schwarze Plastiden, welche sich auf den verschiedenen Teilungsstadien befinden, und dünne graue Chondriosomen, welche im allgemeinen dieselbe Größe wie in den Zellen der Stengelspitze zeigen. Wie auch dort, zeigen die Chondriosomen hier verschiedene Formen auf und man trifft sie in Form von Kugeln, Stäbchen, welche gewöhnlich an einem ihrer Enden verdickt sind, und in Form von langen verschieden gewundenen Fäden.

In den mittleren Teilen des Stengels an der Stelle der künftigen leitenden Elemente, besonders der Gefäße, strecken sich die Plastiden stark in die Länge aus und färben sich weniger intensiv, so daß sie oft nur mit Schwierigkeit von den Chondriosomen zu unterscheiden sind.

Solche abgeänderte Plastidenform hat schon Rudolph (l. c.) ausführlich beschrieben, und ich werde darauf nicht eingehen.

Somit führen unsre Untersuchungen des Spargels im Prinzip zu dem gleichen Schluß, welchen wir auch beim Studium von *Elodea* erhielten: in den alten oder heranwachsenden Zellen unterscheiden sich die Plastiden scharf von den Chondriosomen durch ihre bedeutendere Größe und durch die dichtere Färbung, und zum Teil auch durch die Form, aber je näher man zu dem Gipfelmeristem schreitet, desto mehr und mehr gleicht sich dieser Unterschied aus, wobei die Chondriosomen während der ganzen Zeit ihren allgemeinen Charakter bewahren; die Plastiden jedoch verkleinern sich in ihrer Dimension und werden allmählich den Chondriosomen ähnlich: in dem Meristem selbst finden wir jedoch fast ausschließlich chondriosomenartige Körperchen, und obgleich sie sich untereinander durch die Farbendichte und Form unterscheiden, ist doch keine scharfe Grenze zwischen ihnen durchführbar.

Euphorbia Myrsinites L.

Bei dieser Pflanze fand ich, im Gegensatz zu den zwei vorigen, in den Meristemzellen fast ausschließlich Kügelchen (Fig. 1, Taf. XI) und sehr kurze Stäbchen, fadenförmige Gebilde waren hier nur als Ausnahme anzutreffen. Die Größe der beschreibenden Elemente ist nicht gleich, schwankt aber in einigen Grenzen. Dasselbe muß man auch betreffs der Färbungsintensität dieser Gebilde sagen: einige von ihnen sind schwach grau gefärbt, andre sehen ganz schwarz aus und die dritten nehmen in dieser Hinsicht eine mittlere Stellung ein.

Wenn wir um zwei bis drei Zellschichten unter das äußerste Meristem schreiten werden, so beginnt hier schon eine ganz klare Differenzierung der »chondriosomenartigen« Körper. Ein Teil der Elemente, welcher mehr oder weniger gleichmäßig über die ganze Zelle zerstreut ist, bleibt hier im allgemeinen derselbe, wie er auch im Meristem war, d. h. von nicht großer Dimension und grauer Farbe, ein andrer Teil, welcher sich um den Kern gruppiert, beginnt an Volumen zuzunehmen, zu gleicher Zeit die schwarze Farbe behaltend (Fig. 2, Taf. XI).

Noch weiter nach unten (Fig. 3, Taf. XI) tritt dieser Unterschied zwischen den Plastiden und den Chondriosomen noch schärfer hervor, ihre größte Dimension in der Rinde des Stengels (Fig. 4, Taf. XI) und in den Blättern erreichend.

Hier werden wir schon verhältnismäßig sehr große Chloroplasten finden, in verschiedenen Teilungsstadien und ebensolche kleine, wie auch in der Stengelspitze graue Chondriosomen, von verschiedener Form, obgleich hauptsächlich Mitochondrien anzutreffen sind: in vielen Zellen kann man nur diese letzteren sehen.

Wenn man jetzt die äußersten Meristemzellen (Fig. 1, Taf. XI) mit den anliegenden Nachbarzellen vergleicht, bei welchen man ohne Schwierigkeit kleine Plastiden erkennen kann (Fig. 2 und 3, Taf. XI), so wird es klar, daß ein Teil der Elemente des Meristemplasmas ohne Zweifel zu den Plastiden gehört, und ein andrer Teil zu den Chondriosomen. Eine scharfe Grenze zwischen ihnen ist aber auch hier nicht feststellbar.

Trianea bogotensis Karst.

Bei dieser Pflanze untersuchte ich junge Wurzeln. In den Meristemzellen der Wurzelspitze von *Trianea* (Fig. 5, Taf. XI) finden wir chondriosomenartige Gebilde von verschiedener Form: zum Teil werden diese Kügelchen und dünne Fäden sein, zum Teil Fäden, welche an einem oder an beiden Enden und manchmal auch in der Mitte verdickt sind.

In diesen ungleichmäßig verdickten Fäden erkennen wir sogleich junge Plastiden, welche so gut von Guilliermond (l. c.) beschrieben sind; was die andern Gebilde darstellen, kann man nicht sagen, da auch die Färbung bei ihnen ungleich ist: einige von ihnen sehen grau aus, andre sind wieder schwarzgrau oder schwarz gefärbt. Dessen ungeachtet gibt es zwischen allen diesen Körpern keine scharfe Grenze.

Dasselbe Aussehen haben auch die niedriger liegenden Zellen des zentralen Teils der Wurzel und es ist notwendig, sehr weit von ihrer Spitze abzugehen, um in den Zellen die Plastiden und die Chondriosomen genügend klar zu unterscheiden. Umgekehrt, in der Richtung der Rinde weisen schon die dem Meristem benachbarten Zellen (Fig. 6, Taf. XI) eine gut erkennbare Differenz zwischen den Plastiden und den Chondriosomen auf. Die Chondriosomen sind hier klein, in Form von Mitochondrien, Chondriokonten und Chondriomiten, und sind grau gefärbt, während die Plastiden schon größer und von schwarzer Farbe sind; in ihnen sind auch Stärkekörner nicht selten zu beobachten. Die Plastiden dieser Zellen enden oft mit einem kleinen Schwanz, welcher auf ihre Genese aus den kolbenartig verdickten Fäden des Meristems hinweist.

Die folgende Rindenreihe gibt in ihren Zellen (Fig. 7, Taf. XI) schon eine scharfe Grenze zwischen den Chondriosomen und den Plastiden. Die Chondriosomen werden hier wirklich etwas größer sein, als in den eben beschriebenen Zellen, aber ihr allgemeiner Charakter bleibt derselbe: das sind dieselben grauen Fäden und Kügelchen, wie auch dort. Umgekehrt, erreichen die Plastiden hier verhältnismäßig eine enorme Größe und besitzen ihre übliche Form, dabei zu derselben Zeit ihre eigentümliche, unterscheidende Färbung aufweisend.

Wenn man auf der Rinde weit von der Wurzelspitze dahin fortschreitet, wo die Zellen eine ausgezogene Form angenommen und eine vergleichsweise enorme Dimension erreicht haben (Fig. 8, Taf. XI), so werden wir hier auch sehr große Plastiden finden, nicht selten dicht mit Stärke gefüllt, und relativ große Chondriosomen in ihren verschiedenen Formen: sowohl als Mitochondrien als auch Chondriokonten.

Diese Dimensionszunahme der Chondriosomen ist hier so groß, daß sie wider Willen die Aufmerksamkeit des Beobachters auf sich lenkt, da solche dicke Chondriosomen bei keiner von den bis jetzt untersuchten Pflanzen anzutreffen waren.

Zwischen diesen groben Chondriosomen und den dünnen Fäden der jungen Zellen kann man sämtliche allmählichen Übergänge verfolgen.

Somit ist in den Wurzeln von *Trianea* dieselbe Erscheinung zu beobachten, welche uns schon aus der Beschreibung aller vorherigen Objekte

bekannt ist: in den sich differenzierenden und in den ausgewachsenen Zellen finden wir eine scharfe Grenze zwischen den Plastiden und den Chondriosomen, in dem Meristem jedoch ist keine klare Grenze zwischen diesen Gebilden durchführbar.

Oenothera biennis L.

Diese Pflanze zeichnet sich vor der Reihe der untersuchten und vor den bis jetzt beschriebenen Objekten dadurch aus, daß selbst in seinem Stengelmeristem Gebilde zweifacher Art anzutreffen sind, welche voneinander gewöhnlich ganz klar getrennt sind: einige von ihnen gehören zu den Plastiden, andre zu den Chondriosomen.

Bei einer normal wachsenden Stengelspitze werden wir Meristemzellen von solch einem Aussehen finden, wie das die Fig. 9, Taf. XI, wiedergibt. Es sind hier blaßgefärbte Kügelchen sichtbar, welche über das ganze Plasma zerstreut sind und die sich manchmal zu Kettchen gruppieren; die Größe dieser Kügelchen ist nicht gleich, schwankt aber in einigen Grenzen. Unter den Kügelchen ist eine Anzahl schwarzer Plastiden stets sichtbar, welche teils abgerundet und oval sind, selten ausgezogen, mit einer Durchschnürung in der Mitte, d. h. sich teilend. Außer durch ihre dichte Färbung zeichnen sich die Plastiden von den Chondriosomen auch durch ihre Größe aus: sie sind viel größer als diese letzteren, und obgleich die Dimensionen der Plastiden ebenfalls in bestimmten Grenzen schwanken, sind doch die allerkleinsten Plastiden immer noch größer als die großen Chondriosomen.

Nur bei den schnell wachsenden Spitzen[1]) ist eine kleine Zahl von Zellen in dem Meristem anzutreffen (Fig. 16, Taf. XI), bei welchen die Größe der allerkleinsten Plastiden sich den Dimensionen der größten Chondriosomen nähert, und auf Wunsch oder bei ungenügender Differenzierung des Präparates kann man hier Übergänge zwischen den Plastiden und den Chondriosomen finden.

Geht man jedoch jetzt zu den Stengeln mittleren Alters oder zu den seitlichen Verzweigungen über, so tritt der Unterschied zwischen den Plastiden und den Chondriosomen auch im Meristem ebenso stark ausgeprägt auf, wie in den differenzierten Zellen.

Die Chondriosomen sind hier sehr klein (Fig. 11 und 12, Taf. XI) und grau gefärbt; am allermeisten sind hier Mitochondrien vorhanden, aber nicht selten auch Chondriomiten. Die Plastiden sind jedoch umgekehrt gröber, als in den oben beschriebenen Zellen, und von derselben

[1]) Diese Pflanzen wurden in eine Orangerie gebracht.

schwarzen Farbe; die Teilungsfiguren der Plastiden bilden auch hier keine besondere Rarität.

Hier kann man oft Plastiden mit Stärkekörnern antreffen (Fig. 13 u. 14, Taf. XI), welche, wie es scheint, die Plastiden anschwellen lassen und ihnen ein besonderes Gepräge verleihen, welches an die Plastiden erinnert, die aus den Fadenformen stammen, welche von mir für *Trianea* (Fig. 14, Taf. XI) und von Guilliermond (l. c.) für eine Reihe anderer Pflanzen beschrieben worden sind: namentlich ist die Plastide mit einem kurzen Schwänzchen versehen, am öftesten an einem, manchmal an zwei ihrer Enden.

Dasselbe Bild liefern auch die Meristemzellen (Fig. 15, Taf. XI) der Stengel, welche fast ganz oder völlig ihre Entwicklung beendet haben: die Chondriosomen sind hauptsächlich als Mitochondrien vorhanden, klein und von grauer Farbe, die Plastiden sind jedoch viel größer und von schwarzer Farbe.

Bei den Zellen der embryonalen Höcker, welche sich in den Achseln der Blätter entwickeln, besonders bei den Keimlingen, besitzen die sich teilenden Plastiden eine sehr ausgezogene Form (Fig. 16, Taf. XI) und erinnern nicht selten an junge Plastiden von *Trianea*. Die Chondriosomen sind auch hier immer ebenso klein und schwach gefärbt; repräsentiert werden sie hauptsächlich durch Mitochondrien, es sind aber auch Chondriomiten und sehr kurze Chondriokonten anzutreffen.

Der Unterschied zwischen den Plastiden und den Chondriosomen, welcher schon im Meristem gewöhnlich genügend klar sichtbar ist, tritt noch schärfer bei den Zellen der sich differenzierenden Gewebe hervor.

In den Zellen der Rinde ist dabei eine merkliche Dimensionszunahme der Chondriosomen sehr oft zu beobachten (Fig. 17, 18 u. 19, Taf. XI), aber sie von den Plastiden zu unterscheiden ist immerhin nicht schwer, besonders in genügend durchdifferenzierten Präparaten.

Umgekehrt, in den Zellen des Mesophylls unterscheiden sich die Chondriosomen von denjenigen des Meristems gewöhnlich wenig, nur sind hier die Chondriokonten und, insbesondere, die Chondriomiten öfters anzutreffen (Fig. 20, Taf. XII). Die Plastiden treten auch hier aus dem Chondriom sowohl durch ihre Größe als auch durch ihre Färbung scharf hervor und ohne besondere Übergangsstadien. Überall kann man hier sämtliche Teilungsfiguren der Plastiden auffinden; das kann man sogar an den genügend großen Blattzellen ausführen, wo die Plastiden bedeutend größer und den Gebilden von großen Rindenzellen ähnlich sind (Fig. 21, Taf. XII).

An den ausgezogenen Zellen der Blattstiele kann man fast immer

beobachten, wie lang sich die Chondriosomen ausziehen können. In Zellen, die sich nur auszuziehen beginnen (Fig. 23, Taf. XII), trifft man Mitochondrien an und, im allgemeinen, kurze Chondriokonten, welche manchmal die Form des Buchstaben V annehmen. Die Plastiden bilden hier Stärke nur an einem ihrer Enden, welches verdickt aussieht und an junge Plastiden von *Trianea*, *Zea* usw. sodann erinnert. In den älteren Zellen sind die Plastiden viel größer und es sind zwischen den Chondriosomen nicht selten auch genügend lange Chondriokonten vorhanden (Fig. 22, Taf. XII). Die Plastiden sind hier in der für sie gewöhnlichen Form und in verschiedenen Teilungsstadien vorhanden. Die Chondriokonten sind schwach an den Enden verdickt und färben sich in ihnen etwas dichter. In den sehr langen Stielzellen ziehen sich auch die Chondriosomen sehr lange aus (Fig. 24, Taf. XII). Mitochondrien sind hier nicht oft zu finden, die Hauptmasse bilden die Chondriokonten, welche bald kurz, bald etwas länger, oder sehr lang gestreckt sind. Sie besitzen verschiedene Verdickungen, gewöhnlich an den Enden, nicht selten aber auch in ihren mittleren Teilen. Manchmal sind auch verzweigte Formen zu beobachten. Eine erhebliche Verlängerung der Zelle übt auch, wie es scheint, eine Wirkung auf die Form der Plastiden aus, welche hier etwas ausgezogen aussehen, in schwachem Grade diejenige Erscheinung aufweisend, welche so scharf in den langen centralen Zellen des Spargelstengels ausgedrückt ist.

Auch in diesen Zellen, sowie fast überall, unterscheiden sich die Plastiden von den Chondriosomen nicht nur durch ihre Form, sondern auch durch die Dichte ihrer Färbung.

Somit unterscheidet sich von allen uns in dieser Beziehung bekannten Pflanzen *Oenothera biennis* dadurch, daß man bei ihr eine genügend klare Grenze zwischen den Plastiden und den Chondriosomen auch im Meristem sehr oft finden kann: die ersteren sind größer und von dichterer Färbung, als die zweiten. Nur bei schnell wachsenden Stengeln wird diese Differenz in der Größe und zum Teil in der Färbung sehr oft so stark ausgeglichen, daß sie auch eine andre Interpretation zuläßt.

Allgemeine Bemerkungen.

Das beschriebene Material hat uns gelehrt, daß in den heranwachsenden und in den ausgewachsenen Zellen sich die Plastiden von den Chondriosomen klar unterscheiden, sowohl durch ihre Größe, als auch durch die Färbung, und, im allgemeinen, auch durch die Form. Wirkliche Übergangsstadien zwischen diesen Gebilden werden wir hier nicht finden

und außerdem können wir sämtliche Teilungsfiguren der Plastiden stets beobachten.

In sehr großen Zellen vergrößern sich nicht nur die Plastiden in ihren Dimensionen, sondern auch die Chondriosomen, wobei sie sich jedoch von den ersteren scharf unterscheiden.

In den übrigen Zellen behalten die Chondriosomen annähernd eine und dieselbe Größe dicht bis an das Meristem, während die Plastiden in der Richtung zu ihm allmählich kleiner werden. Und dennoch kann man sie ohne besondere Schwierigkeit gewöhnlich sogar in den Geweben erkennen, welche dem Meristem anliegen, und nicht selten auch in dem Meristem selbst.

Während aber, wie auch bei andern Geweben, die Plastiden sich von den Chondriosomen genügend klar unterscheiden, kann man eine gut bemerkbare Grenze zwischen den einen und den andern in den Meristemzellen nur in seltenen Fällen feststellen. Eine Ausnahme machen nur die langsam wachsenden Sprosse von *Oenothera biennis*, wo gewöhnlich sehr scharf sich die Plastiden auch im Meristem vom Chondriom unterscheiden. Aber in den schnell wachsenden Stengelspitzen dieser Pflanze verkleinern sich die Plastiden so, daß es nicht selten sehr schwer oder fast unmöglich ist, eine Grenze zwischen den uns interessierenden Kategorien von Zellelementen zu ziehen. Somit gibt uns auch nicht *Oenothera* eine begründete Berechtigung zur kategorischen Beantwortung der gestellten Frage, und in dieser Beziehung bleiben alle drei uns bekannten Hypothesen bestehen: die beschriebenen Gebilde der Meristemzellen kann man erstens als embryonale Plastiden betrachten, von welchen ein Teil, im Laufe des Wachstums der Zelle, in den aktiven Zustand übergeht, und als Chondriosomen, von welchen ein Teil sich in den heranwachsenden Zellen in Plastiden verwandelt und zuletzt als eine Mischung von Plastiden und Chondriosomen, von gleicher Größe und Form, welche in den sich differenzierenden Zellen verschieden werden.

Deshalb war es notwendig, solch ein Objekt aufzufinden, bei welchem in allen Zellen embryonalen Charakters nicht nur des Vegetationspunktes, sondern auch andrer Gewebe, sich die Plastiden besonders auszeichnen, so daß ein voller ontogenetischer Cyklus der gegebenen Pflanze erhalten wird, bei welchen eine deutliche Grenze zwischen den Plastiden und den Chondriosomen stets sichtbar wäre.

Als ein solches Objekt erwiesen sich, unter anderm, die Laubmoose, welche von mir im Verlaufe ihrer ontogenetischen Entwicklung von Spore zu Spore untersucht wurden. Der Auseinandersetzung der dabei erzielten Resultate sind die folgenden Abschnitte gewidmet.

Laubmoose.

A. Das Verhalten der Plastiden und der Chondriosomen bei der Sporogenese.

1. Die Plastiden.

Literaturangaben.

Solche sind in Wirklichkeit gar nicht vorhanden. Die Cytologie der Sporogenese bei den Laubmoosen besitzt überhaupt eine sehr arme Literatur. Die Ursache davon liegt wohl in den außerordentlichen Schwierigkeiten, mit welchen die Fixation des sporogenen Gewebes verknüpft ist; sie gelingt überhaupt sehr selten, gewöhnlich jedoch werden Präparate mit einem stark zusammengeschrumpften Archesporium oder mit einem zu einer festen Masse zusammengepreßten Inhalt der Sporenmutterzellen erhalten.

Wenn somit die Fixation sogar des Kernes (im Teilungsmoment) oft nicht gelingt, so steht es noch schlimmer mit der Fixation der Plastiden. Und am wahrscheinlichsten eben aus diesem Grunde finden wir keinen einzigen Hinweis auf die Existenz von Plastiden in dem Sporengewebe in der entsprechenden Literatur. Wenn Plastiden auch manchmal beobachtet wurden, so wurden sie für die verschiedensten Gebilde und nur nicht für Plastiden gehalten. Diese Fälle anzuführen wird jedoch bequemer sein nach der Auseinandersetzung meiner eigenen Untersuchungen.

Eigene Untersuchungen.

Die Methodik.

Die Untersuchung der Plastiden in dem Archesporium in allen Stadien seiner Entwicklung habe ich fast ausschließlich an lebendem Material ausgeführt.

Die Präparate habe ich in folgender Weise dargestellt. Das Sporogon zwischen dem Daumen und dem Zeigefinger der linken Hand fassend, habe ich es in der Richtung der Längsachse mit einem scharfen Rasiermesser in drei bis vier Plättchen zerschnitten. Mit Hilfe von Nadeln brachte ich sodann diese Plättchen auf ein Objektglas in einen Tropfen reinen Olivenöls und bedeckte sie mit einem Deckglas.

So verfuhr ich in denjenigen Fällen, wo die Sporogonen Archesporien, welche noch keine Gonotokonten gebildet haben, besaßen. Im

entgegengesetzten Falle, wenn das Sporogon in sich schon Sporenmutterzellen[1]) eingeschlossen enthielt, verfuhr ich etwas anders.

Ebenso wie im ersten Fall, zerschnitt ich das Sporogon, es zwischen den Fingern fassend, in der Richtung seiner Längsachse, aber nicht in einige Teile, sondern nur in zwei Teile. Beide Hälften des Sporogons brachte ich vermittels Nadeln auf ein Objektglas in einen Tropfen Olivenöl, mit der entblößten Seite, dank dem Durchschnitt, nach oben. Sodann nahm ich mit Nadeln die Columella aus beiden Sporogonhälften heraus und legte sie in denselben Öltropfen, ein wenig entfernt vom Sporogon, so daß das letztere, beim Auflegen des Deckglases auf die Säulchen außerhalb des Deckglases bleiben soll.

Die Mutterzellen der Sporen schwimmen, wie bekannt, im Sporensack in einem besonderen Schleim. Bei der soeben beschriebenen Manipulation bleibt dieser Schleim, zusammen mit einer großen Anzahl von Gonotokonten, mit der Columella des Sporogons in Verbindung und wird zusammen mit ihr vermittels Nadeln ins Öl gebracht[2]). Dieser Umstand bietet die Möglichkeit, die Präparate sehr lange aufzubewahren, da der Schleim, in Öl und Glas verschlossen, nicht austrocknet, und die Mutterzellen der Sporen, welche in diesem Schleim schwimmen, sich in ihrem natürlichen Medium befinden.

Diese Methode besitzt wohl einen Mangel: die Gonotokonten sind des freien Sauerstoffzutritts beraubt (infolge der Umgebung des Schleims mit Öl) und sind gezwungen zur intramolekularen Atmung überzugehen. Dessen ungeachtet, erwies sich diese Methode bedeutend besser, als die Übertragung der Präparate in Lösungen von Salz oder Zucker, wo der Schleim schnell verschwand und die Gonotokonten sich mit einem ihnen fremden Medium umgaben.

In den verschiedenen von mir erprobten Salzlösungen lebten die Mutterzellen der Sporen nicht länger als einen Tag, dagegen in dem für sie natürlichen Schleim, nur mit Öl umgeben (aber nur Olivenöl!), blieben die Gonotokonten (in der Masse) 4—5 Tage lebend.

Am Ende dieser Zeit wurde das Plasma der Gonotokonten sehr klar, und die Kernstrukturen traten genügend scharf hervor.

---

[1]) Mein Material wurde in einer kleinen Orangerie kultiviert, und ununterbrochen nach ihrer Form und Größe usw. die Entwicklung der Sporogonen verfolgend, konnte ich sehr rasch und genügend genau Sporogonen von notwendigem Alter erkennen.

[2]) Den Schleim als Medium anzuwenden ist aus dem Grunde nicht möglich, weil sehr wenig von ihm vorhanden ist, und die Luft stört, um genügend klare Bilder zu bekommen.

Beim Absterben des Gonotokonten schrumpfte sein Inhalt schnell zu einem dichten Klümpchen zusammen, dabei grobkörnig werdend (siehe die Mikrophotogramme, Taf. XIII).

Nach der Präparierung stellte sich die Mehrzahl der allotypischen Kernteilungen ein: die Ursache lag wahrscheinlich in dem Übergange zur intramolekularen Atmung; ich beobachtete nur einige Male die Bildung des synaptischen Knäuels, welche vor meinen Augen im Laufe einer kurzen Zwischenzeit vorging, und einmal beobachtete ich ein geringes Auseinanderrücken von Chromosomen in der Anaphase.

Die Bilder der Kernteilung eines Gonotokonten in vivo kann man nur bei einiger Übung beobachten: in der ersten Zeit ist es notwendig, das Präparat einige Minuten anzusehen, bevor das Auge die allerfeinsten Kernstrukturen zu unterscheiden beginnt. Später, wenn man einige Übung gewonnen hat, werden alle diese Bilder auf einmal sichtbar, wie man nur zum Mikroskopieren schreitet.

Aber auch bei Erfahrung sind manchmal einige Teilungsstadien schwer zu beobachten, namentlich in denjenigen Fällen, oder richtiger, bei denjenigen Moosarten, deren Gonotokonten an Öltropfen reich sind[1]). So zum Beispiel bedarf es großer Mühe, Gonotokonten von *Funaria* in der Metaphase und in der Diakinese usw. aufzufinden.

Die Kernstrukturen sind gewöhnlich bei der Untersuchung im künstlichen Licht, besonders in gelblichem, am klarsten bemerkbar und ich verwendete deshalb beim Mikroskopieren am öftesten eine gewöhnliche elektrische Lampe.

Es gelang mir, von lebendigen Objekten auch eine Reihe Mikrophotogramme zu erhalten, von denen zwei in der Taf. XIII dargestellt sind.

Sie sind, unter meiner Assistenz, von Prof. K. Kruis mit Hilfe von ultravioletten Strahlen aufgenommen worden. In einigen Fällen bediente ich mich auch fixierter und gefärbter Materialien, was später im Text an entsprechenden Stellen angegeben werden wird.

Einige Objekte sind von mir parallel an lebendem und an fixiertem Material studiert worden, und dieses Studium zeigte mir, wie vorsichtig man auf die Abwesenheit von Plastiden oder auf die Gegenwart von Blepharoplasten und Centrosomen nach fixierten Präparaten schließen muß. Dort, wo das lebende Objekt schöne grüne Chloroplasten aufweist, von gewöhnlicher Form und Größe, geben die fixierten Präparate oft gar keine Andeutung auf eine Plastide, oder sie verändern sie bis zur Unkenntlichkeit, den Eindruck von Blepharoplasten, Centro-

[1]) Daß das Öl ist, beweist die Reaktion mit Osmiumsäure (Schwärzung). Es ist aber auch möglich, daß ein Teil dieser Tropfen Mitochondrien sein werden.

somen, eines Chondriosomenhaufens usw. machend. Im besten Falle ändert sich die Größe der Plastide und an fixierten Präparaten sieht sie kleiner aus als in der Wirklichkeit in lebendem Zustande.

Es sind aber natürlich auch an fixierten Präparaten richtig erhaltene Plastiden anzutreffen.

Beschreibung des Prozesses bei einzelnen Repräsentanten.

Catharinea undulata (L.) Web. et M. (in vivo).

Das Gewebe, das zur Umbildung in das Archesporium bestimmt ist, unterscheidet sich von den benachbarten Geweben des Sporogons durch die Form seiner Zellen, welche gewöhnlich gradeckig und öfters fast quadratisch sind. Dazu kommt noch, daß die Zellen relativ weniger Chloroplasten besitzen, als die Zellen der benachbarten Gewebe. Demzufolge ist es leicht, dieses Gewebe an Schnitten durch das Sporogon zu finden.

Es setzen schon die ersten Teilungen, welche zur Bildung des zu beschreibenden Gewebes führen, die Zahl der Chloroplasten in einzelnen Zellen bis zu 4—5 herab. Die Chloroplasten verteilen sich dabei zuerst ohne eine bestimmte Ordnung in bezug auf den Kern (Fig. 1, Taf. XIV). Der Kern nimmt die Mitte der Zelle ein, oder liegt ziemlich exzentrisch; man kann ihn nach dem Nucleolus am leichtesten bemerken, der durch seine scharfen Konturen auffällt, während der Kern schwache Umrisse hat.

Aber zueinander ordnen die Chloroplasten sich so an, daß sie auffallende abgesonderte Pärchen bilden; in den Zellen mit je fünf Chloroplasten bleibt einer von ihnen ungepaart und liegt allein (Fig. 1 und 2, Taf. XIV).

Etwas später verändern die Chloroplasten ihre Stelle so, daß sie die Kernpole durch ihre Lage ganz klar anzeigen (Fig. 3 u. 3*a*, Taf. XIV).

Während dieser ganzen Zeit teilen die Chloroplasten sich nicht und demzufolge bekommt jede junge Zelle nach nachfolgender Zellteilung eine entsprechend noch kleinere Zahl der Chloroplasten. Dort, wo die alte Zelle fünf Chloroplasten besaß (Fig. 1 u. 2, Taf. XIV), werden die jungen Zellen: die eine zwei und die andre drei (Fig. 4) von ihnen bekommen; dort, wo dagegen vier Chloroplasten waren, bekommen die beiden jungen Zellen je zwei von ihnen (Fig. 5, Taf. XIV).

In diesen neuen Zellen bewegen die Chloroplasten sich wieder an die Kernpole; in den Zellen, wo die Zahl der Chloroplasten drei ist, stellen sich an einen Kernpol die zwei gepaarten Chloroplasten und an den andern der ungepaarte (Fig. 6, Taf. XIV); dort, wo es nur zwei Chloroplasten gibt, stellt jeder von ihnen sich an je einen der beiden Pole des Kernes

(Fig. 7, Taf. XIV). Nach nachfolgender Teilung bekommen wir im ersten Falle eine Zelle mit einem Chloroplasten und die andre mit zwei dieser Gebilde (Fig. 8, Taf. XIV), so daß sie sich noch einmal teilen müssen; im zweiten Falle werden die beiden Zellen je einen Chloroplasten bekommen. Damit ist das Gewebe zum Archesporium umgewandelt.

Die Chloroplasten blieben bis jetzt relativ klein, doch von jetzt an beginnen sie sich merkbar zu verbreitern (Fig. 9, Taf. XIV und folgende); gleichzeitig verlieren sie ihre linsenartige Form (Fig. 1—8) und werden in ihrem ganzen Durchschnitt gleichmäßig dünn. Indem er sich verbreitert und verdünnt, biegt der Chloroplast sich in der Weise, daß seine Oberfläche parallel zur Oberfläche des Kernes wird (Fig. 10, Taf. XIV), und diese Form behält der Chloroplast auch nachher in allen Zellen des Archespors, bis zur Metaphase der heterotypischen Teilung des Kernes der Gonotokonten.

Nachdem nun der Chloroplast in der Zelle in Einzahl bleibt, verläßt er notgedrungen seinen inaktiven Zustand, und es entspricht jetzt jeder Kern- und Zellteilung im Archesporium eine Teilung des Chloroplasten. Die Teilung erfolgt in der für dieses Körperchen gewöhnlichen Weise. Der Chloroplast dehnt sich in die Länge aus (Fig. 9 u. 10); in seiner Mitte tritt ein Einschnitt auf (Fig. 11, Taf. XIV), der immer und immer größer wird (Fig. 12 u. 13), bis er den Chloroplasten in zwei neue zerteilt. Diese gehen gegenseitig voneinander und stellen sich endlich an die Kernpole (Fig. 14, Taf. XIV).

Nach einigen Teilungen wird der Chloroplast so dünn, daß man ihn nur an den optischen Querschnitten gut sehen kann. In dieser Zeit sieht der Chloroplast in der Zelle wie ein dünner grüner Streifen aus, der dem Kerne fast oder ganz parallel verläuft (Fig. 15 u. f., Taf. XIV).

In den mehr oder weniger alten Archesporzellen verbreitert sich der Chloroplast so stark, daß er länger als der Kern wird (Fig. 16), und von oben gesehen deckt er den Kern ganz zu. Die Vermehrung des Chloroplasten geschieht auch hier durch die gewöhnliche Zweiteilung, wobei die jungen Chloroplasten voneinander weggehen (Fig. 17) und sich an diametral gegenseitige Pole des Kernes stellen (Fig. 18, Taf. XIV).

Je näher die Bildung der Sporenmutterzellen, desto früher beginnt der Chloroplast sich zu teilen, so daß die ersten Teilungsstadien endlich schon dann zu sehen sind, wenn die Chloroplasten noch an den Kernpolen der alten Zelle stehen (Fig. 19, Taf. XIV). Zum Ende der Kernteilung sehen wir die Chloroplasten sich schon stark ausdehnen (Fig. 20, Taf. XV) und in den neuen Zellen erreichen sie relativ große Dimensionen (Fig. 21, Taf. XV).

So geht es fort, bis die Sporenmutterzellen gebildet sind. Sie nehmen nach und nach eine kugelige Form an (Fig. 22, Taf. XV) und trennen sich voneinander, so daß sie in kurzer Zeit frei im Schleim schwimmen, der den Sporensack erfüllt.

Im jungen Gonotokonten bleibt der Chloroplast bei dem Kerne liegen und, indem er sich in die Länge ausdehnt, führt er seine früher angefangene Teilung fort. Bei sorgfältiger Betrachtung des Kernes entdeckt man jetzt in ihm eine feine Punktierung (Fig. 22, Taf. XV).

Mit der weiterschreitenden Ausdehnung und Teilung des Chloroplasten zusammen fängt auch der Kern an, sein Volumen rasch zu vergrößern; seine Punktierung geht in ein Geflecht von feinen Fäden mit Knoten in bestimmten Zwischenräumen über. An der dem Chloroplasten nächsten Seite des Kernes reißen sich die Fäden von seiner Membran los und ballen sich an der gegenüberliegenden Seite zusammen. Der Kern verliert gleichzeitig seine centrale Lage in der Zelle und geht zu einer von ihren Seiten ab, und zwar in der Richtung, wohin auch die Kernfäden sich zusammenballen.

Wir haben jetzt vor uns das Stadium, das man als Synapsis kennt (Fig. 23, Taf. XV und Phot. 2, Taf. XIII). Bei aufmerksamer Betrachtung kann man sehr oft sehen, daß je zwei Kernfäden einander parallel verlaufen (Fig. 23 u. 25).

Der Chloroplast fährt fort, sich noch stärker zu verbreitern, so daß die künftigen jungen Chloroplasten schon vor der Teilung des alten Chloroplasten ausgedehnt werden (Fig. 24, Taf. XV). Wenn seine Konturen nur zum Teil bemerkbar sind, scheint es, als ob wir mit zwei Chloroplasten zu tun haben (Fig. 25).

In dem Moment, wo der Chloroplast seine Teilung beendigt oder beendigt hat, fließen die Fäden jedes Paares dem Anscheine nach zusammen oder sie legen sich wenigstens dicht aneinander (Fig. 26 u. 27, Taf. XV).

Nach der Teilung gehen die Chloroplasten voneinander weg und nach den gegenüberliegenden Seiten, indem sie sich kreuzweise stellen und eine neue Teilung beginnen (Fig. 28); die Parallelität der Kernfäden wird wieder gut bemerkbar (Fig. 29, Taf. XV).

Diese zweite Teilung des Chloroplasten kommt dann zu Ende, wenn sie sich an den Seiten des Kernes einander gegenüberstellen; der Kern rückt jetzt wieder zurück in die Mitte der Zelle, und man sieht schon vier Chloroplasten im Gonotokonten; die Kernfäden erfüllen das ganze Volumen des Kernes und fangen an, sich in die Chromosomenpärchen zusammenzuziehen (Fig. 30, Taf. XV).

In nächster Phase (Diakinesis) stellen die Chloroplasten sich in tetraedrischer Anordnung (Fig. 31) (die Chromosomenpärchen konnte ich wahrscheinlich deshalb nicht sehen, weil die entsprechenden Zellen ziemlich stark plasmolysiert waren).

Gleich darauf verschwindet die Kernwand und wir sehen die Chromosomen in der Mitte der Zelle in ein und derselben Ebene liegen (Fig. 32 u. 33, Taf. XV); von oben aus gesehen vollzieht sich die Verteilung der Chromosomen zu je zwei öfters ganz genau.

Zur Zeit des Auseinandergehens der Chromosomen kann man Zugfasern in Form von feinen, kaum bemerkbaren Fäden sehen (Fig. 34, Taf. XVI).

Die Kernspindel richtet sich so, daß ihre Achse zwischen den beiden Chloroplastenpaaren liegt, und die Kernmassen liegen in der Interkinese in der Mitte der Linie, welche die Chloroplasten des entsprechenden Paares verbindet (Fig. 35, Taf. XVI).

Nach der zweiten Teilung sieht man Fäden zwischen den Paaren der jungen Kerne; die Fäden haben in ihrer Mitte Verdickung (Fig. 36), auf deren Stelle bald junge Scheidewände erscheinen (Fig. 37), die den Gonotokonten in vier Tetrasporen zerteilen (Fig. 38). Indem sie die Ecken ihrer Wände abrunden, trennen die Sporen sich voneinander (Fig. 39 u. 40, Taf. XVI) und werden frei.

Die Kernspindel stellt sich bei der zweiten Teilung offenbar in der Weise, daß die Chloroplasten an ihre Pole zu sitzen kommen; das ist deshalb anzunehmen, weil die jungen Kerne an je einem von den vier Chloroplasten des Gonotokonten gelegen sind, und weil jede junge Spore immer einen Chloroplasten besitzt (Fig. 40 u. 41).

Die Wand des Gonotokonten verschwindet bald nachher, und die Sporen liegen frei im Sporosack.

Der Chloroplast der Spore fängt an, sich in die Länge auszudehnen und zu teilen (Fig. 42), und die Spore besitzt dann schon zwei Chloroplasten (Fig. 43). Weiter sehen wir wieder ihre Teilung: entweder eines (Fig. 44) — und dann hat die Spore drei Chloroplasten (Fig. 45), oder beider (Fig. 46, Taf. XVI) — und die Spore besitzt dann schon vier Chloroplasten.

In einigen Sporen endet damit die Vermehrung der Chloroplasten, in andern jedoch finden noch eine oder zwei Teilungen statt.

Die Spore hat also immer mehrere Chloroplasten; wenn es öfters schwer ist, sie zu bemerken, so kommt das nur davon, weil die Öltröpfchen, welche die Spore erfüllen, dieses verhindern.

Fissidens adianthoides (L.) Hedw. (in vivo).

Das Gewebe, welches sich in das Archesporium unmittelbar umbildet, erfährt dieselben Veränderungen in bezug auf die Zahl der Chloroplasten in seinen Zellen, wie wir es schon bei *Catharinea undulata* gesehen haben. Diese Veränderungen habe ich dort, wie es mir scheint, ausführlich genug beschrieben; darum will ich hier nur das Hauptsächlichste erwähnen.

Die Reduktion der Chloroplastenzahl bei der Bildung des Archesporiums findet auch hier in der Weise statt, daß die Chloroplasten sich bei der fortgehenden Vermehrung der Zellen dieses Gewebes nicht teilen, ihre Zahl nicht vergrößern. Demzufolge bekommen die jungen Zellen bei jeder Teilung der alten Zelle immer weniger Chloroplasten; dort z. B., wo sie in Vierzahl waren (Fig. 1, Taf. XVI), werden die jungen Zellen nur je zwei Chloroplasten bekommen (Fig. 2, Taf. XVI), und nachdem auch diese Zellen sich teilen werden, werden die neuen Zellen nur je einen Chloroplasten besitzen (Fig. 3, Taf. XVI). Damit werden wir schon das Archesporium vor uns haben.

In den jüngsten Archesporzellen unterscheidet sich der Chloroplast (Fig. 3) von den Chloroplasten der Nachbargewebe des Sporogons (Fig. 3*a*) zuerst gar nicht, doch biegt er sich bald dem Kerne ganz oder fast parallel an (Fig. 4, Taf. XVI). Dann fängt der Chloroplast an sich zu teilen (Fig. 5), und die jungen Chloroplasten gehen voneinander (Fig. 6, Taf. XVII) und stellen sich an die Kernpole, so daß jede junge Zelle immer je einen Chloroplasten bei der Zellteilung bekommt.

Während der folgenden Teilungen verbreitert sich der Chloroplast nach und nach (Fig. 7) und wird dabei auch immer dünner (Fig. 8 u. 11, Taf. XVII). Auch in diesen mittleren Stadien der Entwicklung des Archesporiums teilt sich der Chloroplast immer entzwei, und die jungen Chloroplasten gehen voneinander nach verschiedenen Richtungen (Fig. 8 u. 9), bis sie sich an diametral gegenüberliegende Kernpole einstellen (Fig. 10). Demzufolge lassen die Chloroplasten in jedem Paar der Geschwisterzellen durch ihre Lage sofort erkennen, wo die neue Scheide sich befindet (Fig. 11, Taf. XVII).

In den Zellen des alten Archespors sind die Chloroplasten sehr dünn und nur bleichgrün (Fig. 12 u. 13); dabei geht die Zellteilung gewöhnlich in gegenseitig senkrechten Richtungen, und an den Schnitten sehen wir die Zellen fast immer zu je vier (»Pseudotetraden«) (Fig. 14, Taf. XVII).

Im jungen Archesporium reagieren noch die Chloroplasten auf Veränderungen der Lichtintensität durch die bekannten Ortsveränderungen in der Zelle, aber im alten Archesporium verlieren sie offenbar diese Eigen-

schaft; entsprechende Untersuchungen habe ich jedoch nur mit jungen Archesporien gemacht. So, z. B., in einem von meinen Präparaten, das um 5 Uhr abends gemacht wurde, lagen die Chloroplasten der Archesporzellen in der Weise, daß sie hauptsächlich im Durchschnitt gesehen wurden. In der Nacht blieb das Präparat in einer feuchten Kammer und ich habe es erst am folgenden Tage um 8 Uhr morgens wieder untersucht: die Chloroplasten haben ihre Stelle in den Zellen über Nacht in der Weise geändert, daß sie jetzt mit der flachen Seite gesehen wurden.

Ich habe das Präparat auf dem Mikroskoptisch liegen gelassen — und um 10 Uhr, d. h. nach 2 Stunden haben die Chloroplasten sich wieder so gestellt, wie sie den Abend zuvor standen.

Im fertigen Gonotokonten beginnt das Synapsisstadium sehr früh, noch in der Zeit, wenn die sporogenen Zellen dicht aneinander liegen und nur ihre Ecken abzurunden anfangen (Fig. 15, Taf. XVII). Es wird eine feine Punktierung im Kern ganz klar bemerkbar, welche dann später in eine fädige Struktur übergeht; der Kern fängt an, sein Volumen zu vergrößern, und die Fäden, welche jetzt knotige Verdickungen in gewissen Zwischenräumen zeigen, reißen sich bald von der Kernwand ab und ballen sich an einer Seite des Kernes zusammen (Fig. 15).

Dieses Abreißen der Fäden von der Kernwand erfolgt nicht momentan, sondern — wie es mir bei diesem Objekt einige Male zu beobachten gelungen ist — nach und nach, so daß der ganze Prozeß der Synapsisbildung einen merkbaren Zeitraum fordert, der bei den einen Gonotokonten kürzer, bei andern länger ist und im allgemeinen von einigen Minuten bis eine halbe Stunde dauert.

Mit den Kernfäden zusammen bewegt sich auch der Nucleolus: er ist offenbar mit ihnen so stark verbunden, daß die Fäden ihn in ihrer Bewegung mitziehen, ohne ihn abzureißen.

Gleichzeitig mit der Bildung des synaptischen Knäuels verliert der Kern seine centrale Stelle in der Zelle und kommt einer ihrer Wände näher zu stehen, und zwar nach der Richtung, wo auch die Kernfäden sich zusammenballen.

Es verändert dabei seine Stelle auch der Chloroplast, der seine nahe Lage am Kern zu erhalten strebt.

Der synaptische Knäuel wird dann noch dichter; dies konnte ich wenigstens an demselben Präparat am nächsten Tage bemerken (Fig. 16, Taf. XVII): die Wände der Gonotokonten wurden fast ganz abgerundet und die Kernfäden in einen dichteren Knäuel zusammengeballt. Diese Zellen waren noch lebendig, wie es nach ihrem ganzen Aussehen zu sehen war; tote Zellen sehen ganz anders aus (s. Mikrophotogramme auf Taf. XIII);

außerdem bewegten sich noch die sie erfüllenden Öltröpfchen in derselben schwankenden Bewegung, wie sie es auch am Tage vorher machten; in toten Zellen stehen sie still. Diese Zellen lebten noch 2 Tage, und erst fünf Tage nach der Präparierung habe ich sie tot gefunden.

Während dieses ganzen Stadiums führt der Chloroplast seine Teilung fort, welche er noch in der Zelle, die den Gonotokonten von sich gegeben hat, angefangen hatte. Nachdem die Teilung des Chloroplasten beendet ist, gehen die jungen Chloroplasten voneinander und stellen sich einander gegenüber an den Seiten des Kernes auf (Fig. 17, Taf. XVII). Der synaptische Knäuel wickelt sich zu dieser Zeit ganz auseinander, und der Kern ist jetzt von Doppelfäden in allen Richtungen durchdrungen. Die Fäden sind sehr fein und haben knotige Verdickungen in gewissen Zwischenräumen; die Knoten sind in jedem Paar dieser parallelen Fäden gegeneinander gestellt.

Es erfolgt nun noch eine Teilung der beiden Chloroplasten, und der Gonotokont besitzt jetzt deren vier. Ihre Farbe, welche bis dahin bleichgrün war, verschwindet jetzt ganz, und nun haben wir Leukoplasten vor uns, doch nicht in gewöhnlicher kugeliger Form, sondern oval und flach, wie es für die Chloroplasten charakteristisch ist.

Der Kern geht zu dieser Zeit in die Diakinese über: die Chromosomenpärchen treten sehr oft ganz deutlich hervor (Fig. 18, Taf. XVII). In dieser Zeit sind die Leukoplasten tetraedrisch angeordnet; es ist manchmal sehr schwer sie dann zu sehen, weil sie farblos und außerdem durch zahlreiche Öltröpfchen verborgen sind.

Im folgenden Stadium sehen wir, daß die Kernwand schon verschwunden ist und daß die Chromosomenpärchen ungefähr in derselben Ebene liegen (Fig. 19, Taf. XVIII).

In der Anaphase tritt die Kernspindel in der Mitte der Zelle ganz deutlich hervor, und zwar als ein heller Fleck, der von den Öltröpfchen fast vollkommen frei und von schwach bemerkbaren sehr feinen Zugfasern durchdrungen ist (Fig. 20, Taf. XVIII). Diese Zugfasern sind mit einem Ende an die Chromosomen und mit dem andern an die äußere Cytoplasmaschicht angeheftet, was besonders schön 2—3 Stunden nach der Präparierung zu bemerken ist: dann löst sich der Zellinhalt von der Zellwand etwas ab (Fig. 21), und an den Stellen der Plasmaoberfläche, wo die Zugfasern angeheftet sind, erscheint eine Einbuchtung, vielleicht als Folge der Verkürzung der Zugfasern. Neben diesen Einbuchtungen sind mehr oder weniger große Klumpen eines ölartigen Stoffes oft bemerkbar. In diesem Stadium lebten die Gonotokonten in meinen Präparaten 2—3 Tage nach der Präparierung.

Die Kernspindel der ersten Teilung ordnet sich in der Zelle so an, daß ihre lange Achse zwischen beiden Leukoplastenpaaren liegt (Fig. 20 und 21, Taf. XVIII). Während der zweiten Teilung stellen sich die Leukoplasten schon an die Spindelpole, und die Zugfasern heften sich, wie ich das mehrmals beobachten konnte, an das Centrum je eines Leukoplasten (Fig. 22, Taf. XVIII). In dieser Zeit zeigen die Leukoplasten an den entsprechenden Punkten Ausstülpungen, welche nach den Chromosomen gerichtet sind. Diese Ausstülpungen sind wahrscheinlich ein Resultat eines Zusammenziehens der Zugfasern[1]).

Alldemzufolge sammeln sich die Chromosomen am Ende der Teilung neben den Leukoplasten. In dieser Zeit sind auch die Phragmoplasten zu sehen (Fig. 23, Taf. XVIII).

Junge Zwischenwände teilen den Gonotokonten auf vier Sporen, jede mit einem Kern und einem Leukoplasten (Fig. 24, Taf. XVIII). Mit der Abrundung ihrer Wand trennen sich die Sporen voneinander (Fig. 25, Taf. XVIII) und werden frei. Ihre weitere Entwicklung geht in derselben Weise, wie bei *Catharinea*. Es ist nur hier sehr schwer, das Schicksal der Plastide zu verfolgen, da die Spore dicht mit Öltropfen gefüllt ist und die Plastide selbst farblos ist.

Funaria hygrometrica (L.) Sibth. (in vivo).

Bei diesem Moos werden die Chloroplasten schon in einem alten Archesporium farblos. In die Gonotokonten treten die Leukoplasten auch hier als sich teilend ein (Fig. 2, Taf. XVIII) und im Stadium der Synapsis sind ihrer schon zu je zwei in den Zellen vorhanden (Fig. 3, Taf. XVIII). Sich voneinander trennend, translozieren sich die Leukoplasten so, daß sie sich zueinander kreuzweise einstellen (Fig. 4 u. 5, Taf. XVIII); während dieser Translokation beginnt die zweite Leukoplastenteilung. Eine originelle Eigentümlichkeit weisen bei diesem Objekte die Öltropfen auf.

Im Gegensatz zu den beschriebenen zwei Arten ist hier keine Bewegung der Öltropfen zu bemerken; von Interesse ist es aber, daß sie an den Leukoplasten befestigt sind. Diese Anklebung beginnt schon in dem Archesporium (Fig. 1, Taf. XVIII), obgleich sie hier noch unwesentlich ist. In den Gonotokonten jedoch kleben die Öltropfen fast ganz den Leukoplasten an, so daß im Cytoplasma, welches ihnen nicht angrenzt, eine nichtige Ölquantität zurückbleibt.

---

[1]) Wenn sie nicht durch feine Stoffströmungen verursacht sind.

An einem Leukoplasten, welcher eben zur Teilung schreitet, sitzen die Öltropfen über seine ganze Oberfläche verbreitet (Fig. 2 und 5, Taf. XVIII); wenn jedoch die Teilung etwas weiter fortschreiten wird und die Enden des Leukoplasten mehr gebogen sein werden (richtiger konkav) als seine Mitte, wandern die Öltropfen auf seine Ränder (Fig. 3 u. 4, Taf. XVIII). Aus diesem Grunde werden, wenn die Teilung der Leukoplasten vollendet sein wird, die jungen Leukoplasten je eine bestimmte Ölportion erhalten. In der Metaphase finden wir die Leukoplasten mit den ihnen anliegenden Öltropfen in tetraedrischer Ordnung gelagert. Zwischen ihnen sind Chromosomen und an den letzteren anhaftende Stränge bemerkbar (Fig. 6, Taf. XVIII). In der Tetrade sind die Sporen dicht mit Öltropfen gefüllt und die Kerne sind gewöhnlich nicht zu sehen (Fig. 7, Taf. XVIII). Die Sporen werden hier mit noch nicht abgerundeten Ecken frei (Fig. 8, Taf. XVIII), und dieses geschieht nur zu der Zeit, wenn die Spore ihre äußerste Dimension erreicht hat (Fig. 9, Taf. XVIII).

Die bis jetzt farblos verbliebene Plastide beginnt sich grün zu färben und sich zu teilen.

Bei seinen ersten Teilungen nimmt der Chloroplast nicht an Volumen zu, und seine Nachkommen erweisen sich deshalb von kleinerer Dimension, als eine Plastide einer jungen Spore (Fig. 10, Taf. XVIII).

Physcomitrium piriforme (L.) Brid.

Bei dieser Art untersuchte ich die Bildung und die Entwicklung des Archesporiums an einem Material, welches in der gewöhnlichen Mischung von Chromsäure und Essigsäure fixiert wurde. Die Zellen, welche sich allmählich in archesporiale umwandeln, enthalten in sich viele Plastiden eingeschlossen (wahrscheinlich Chloroplasten). In der Anaphase verteilen sie sich auf den Polen der Teilungsfigur, entweder sich zu einem Klumpen zusammenballend (Fig. 1, Taf. XIX), oder sich längs der entsprechenden Zellseiten ausziehend (Fig. 2, Taf. XIX).

In dieser Stellung verbleiben die Plastiden auch weiter (Fig. 3, Taf. XIX). Erst dann, wenn während der Anlage der neuen Scheidewand (Fig. 4, Taf. XIX) die Teilung der Zelle ganz vollendet ist, verteilen sich die Plastiden über die ganze Zelle. Bei der Vermehrung dieser Zellen verlangsamt sich die Plastidenteilung und hört sogar ganz auf, und da die Zellen sich in ihrer Zahl zu vermehren fortsetzen, so kommen mit jeder Zellenteilung auf den Anteil der Tochterzellen immer weniger und weniger Plastiden.

Schon nach einer oder zwei Teilungen finden wir sie in der Zelle in einer Anzahl von vier oder fünf (Fig. 5, Taf. XIX), sodann finden wir dort zwei (Fig. 6, Taf. XIX) und zuletzt nur eine (Fig. 7, Taf. XIX).

Von diesem Moment an beginnt die Plastide sich zu vergrößern (Fig. 8, Taf. XIX) und, sich von derjenigen Seite einbiegend, welche gegen den Kern gerichtet ist, strebt sie zu seiner Oberfläche parallel zu werden (Fig. 9 und die folgenden, Taf. XIX).

In den Zellen des Archesporiums erreicht die Plastide relativ enorme Dimensionen, in dieser Hinsicht an die Plastiden vieler Gewebe von *Selaginella* und *Anthoceros* erinnernd. Schon in dem jungen Archesporium ist die Plastide größer als der Kern (Fig. 10, 11 und 12, Taf. XIX), aber besonders fällt das in die Augen bei den großen Zellen eines erwachsenen Archesporiums, bei der Untersuchung einer Plastide, welche mit der flachen Seite gelagert ist (Fig. 13 u. 14, Taf. XIX): wie leicht zu sehen ist, ist der durch die Plastide durchscheinende Kern viel kleiner als diese letztere.

Die unrichtige Form der Plastide auf der Fig. 14, Taf. XIX, ist wahrscheinlich durch die Einwirkung der fixierenden Flüssigkeit bedingt. Eine solche Verunstaltung der Plastidenkonturen war in meinen Präparaten vergleichsweise selten anzutreffen, aber dafür habe ich sie oft an Kernen beobachtet. Sie verlieren dabei ihre kugelige oder ovale Form und flachen sich entweder nach einer Seite zu ab (Fig. 15, Taf. XIX), oder sie verbiegen sich an einigen Stellen ins Innere (Fig. 16, Taf. XIX), oder sie dehnen sich fast bis zur ganzen Länge der Zelle aus; dabei unterliegt auch der Nucleolus derselben Umwandlung (Fig. 17, Taf. XIX).

Einer jeden Teilung des Kernes im Archesporium geht immer eine Teilung der Plastide voran.

Ihre Teilung vollzieht sich in üblicher Weise, namentlich so, daß in der Mitte der Plastide eine Einschnürung sich bildet (Fig. 18, Taf. XIX), welche sie auch zuletzt in zwei Teile zerteilt (Fig. 19, Taf. XIX); die jungen Plastiden werden nach den Polen des Kernes befördert (Fig. 20, Taf. XIX), wo sie während seiner ganzen Teilungsperiode verbleiben. In der Metaphase und in der Anaphase haften sich die Spindelfäden an die Plastiden an: auf gelungenen Präparaten ist das sehr klar sichtbar (Fig. 21 u. 22, Taf. XIX). Das Centrum der Plastiden stülpt sich dabei in der Richtung der Chromosomen aus.

Diese Ausstülpung geschieht wahrscheinlich wegen der Zusammenschrumpfung der Fäden; wenn diese Erklärung richtig ist, so ziehen die Spindelfasern auch wirklich die Chromosomen zu den Polen und ver-

dienen die Benennung »Zugfasern«[1]). Zu der Zeit, als die Chromosomen sich auf den Polen der Teilungsfigur zu einer kompakten Masse gesammelt haben, besitzen die Plastiden schon ihr übliches Aussehen; nur ein Teil des Cytoplasmas, welches zwischen ihnen und den Kernen liegt, weist gröbere Maschen auf und färbt sich etwas dichter (Fig. 23, Taf. XX).

Zu der Zeit, als der Phragmoplast schon eine merkliche Scheidewand abgelagert hat, geht auch diese Erinnerung an die gewesene Verbindung der Plastiden mit der Kernspindel verloren (Fig. 24, Taf. XX).

Bei dem gegebenen Objekt bleibt der Phragmoplast völlig erhalten, bis die neue Scheidewand sich ganz ausbildet (Fig. 25, Taf. XX); er wird nur zuletzt nicht so breit. Ausführliche Untersuchungen über den Phragmoplasten habe ich übrigens nicht ausgeführt. In jeder Tochterzelle ist der Kern so gelegen, daß er sich zwischen der jungen Wand und der Plastide befindet (Fig. 26, Taf. XIX); aus dieser Lage der Plastiden und der Kerne, welche eine Folge der beschriebenen Beziehung zwischen Plastiden und der Teilungsfigur ist, ist es immer noch leicht, Schwesterzellenpaare zu bestimmen.

Die Teilung der Zellen in dem Archesporium verläuft augenscheinlich in zueinander senkrechten Richtungen, die Bildung von charakteristischen »Pseudotetraden« bedingend (Fig. 27, Taf. XX). Bei der Durchmusterung der fixierten Plastiden fällt sehr oft ihre allgemeine eigentümliche Struktur auf. Am klarsten ist das auf der Fig. 14, Taf. XIX, zu sehen. Die Plastide erscheint von dünnen Fäden durchzogen, welche hauptsächlich nach ihrer langen Achse gerichtet sind. Auf senkrechten Durchschnitten der Plastide sehen diese Fäden wie dunkle Punkte aus (Fig. 7, 9, 15, Taf. XIX).

In denjenigen Fällen, wo bei der Plastide, welche von der flachen Seite gesehen wird und welche von der Seite des Kernes eingebogen ist (wie die Fig. 14, Taf. XX), der centrale Teil in einiger Tiefe ausgeschnitten ist, kann leicht der Eindruck entstehen, als ob zwischen zwei dunklen Körpern, welche auf den Polen des Kernes liegen, Fäden einer besonderen Spindel ziehen.

Diesen Fehler begehen auch wirklich einige Forscher, wie wir später noch sehen werden.

---

[1]) Siehe jedoch die Anmerkung S. 343.

Amblystegium serpens (L.) Br. eur.

Die Sporogonen dieses Mooses wurden mit der Flüssigkeit von JUEL fixiert (Alkohol 50% — 100 ccm, Essigsäure 2 ccm und Zinkchlorid 2,0 g). Diese Flüssigkeit erwies sich als ein ziemlich schlechter Fixator: in den meisten Fällen wurden die Plastiden bis zur Unkenntlichkeit deformiert oder auch ganz zerstört.

Aber auch in diesen Präparaten gelang es nach langem Suchen, eine Reihe von Zellen mit gut erhaltenen Plastiden aufzufinden. Ich führe hier eine Zelle eines Archesporiums mit zwei Plastiden an den Polen des Kernes an (Fig. 1, Taf. XX); und sodann eine Pseudotetrade, welche für ein erwachsenes Archesporium charakteristisch ist (Fig. 2, Taf. XX) und zuletzt einen Gonotokonten im Stadium der Synapsis (Fig. 3 u. 4, Taf. XX). In allen diesen Zellen wird die Plastide in ihrem senkrechten Durchschnitt gesehen.

Hypnum molluscum Hedw.

Dieses Objekt wurde von mir an lebenden Präparaten studiert; ich untersuchte hier die Bildung des Archesporiums. Sie verläuft auf dem uns schon bekannten Wege. In dem Gewebe, welches sich in das Archesporium umwandelt, stellt sich die Vermehrung der Chloroplasten ein, die Zellteilung jedoch wird fortgesetzt. Deshalb erhalten die jungen Zellen mit jeder Teilung immer weniger und weniger Chloroplasten. Schon nach zwei bis drei Teilungen sehen wir sie in den Zellen zu vier oder 5 (Fig. 5 u. 6, Taf. XX); die nächste Teilung führt dazu, daß in den Tochterzellen nur noch drei (Fig. 7, Taf. XX) oder je zwei Chloroplasten vorhanden sein werden und zuletzt führt noch eine Teilung zur Bildung eines monoplastischen Archesporiums.

Auch bei diesem Objekt halten sich die Chloroplasten vorzugsweise paarweise (Fig. 5, Taf. XX); wenn sie in der Zelle in ungerader Zahl vorhanden sind, sind sie auch zu je drei anzutreffen (Fig. 6, Taf. XX); dabei nähern sich die Chloroplasten einander mit ihren Rändern, und möglicherweise auch bis zur vollständigen Berührung miteinander.

In Einzahl in dem Archesporium zurückgeblieben, nimmt der Chloroplast an Größe zu (Fig. 9, Taf. XX) und beginnt sich zu teilen, d. h. mit andern Worten, er verhält sich in uns schon bekannter Weise.

Mit Zunahme der Entwicklung des Archesporiums bleicht der Chloroplast ab und in einem alten Archesporium finden wir ihn schon farblos, d. h. in das Stadium des Leukoplasten übergegangen. In allen diesen Plastiden kann man sehr oft helle oder dunkle (je nach der Einstellung

des Mikroskops) dichtere Punkte beobachten, welche besonders klar an senkrechten Schnitten sichtbar sind. Das können Stärkekörner sein, es ist aber auch möglich, daß das diejenigen Gebilde sein können, welche wir bei *Physcomitrium* in Form von Fäden beobachtet haben, die in fixiertem Material sich dichter färben, als der übrige Plastidenkörper. Ein ebensolches Verhalten von Plastiden in dem Archesporium habe ich beobachtet bei *Dicranodontium* sp., *Mnium punctatum*, *Thuidium Philiberti*, *Pogonatum* sp., *Bryum argenteum* und *Fontinalis antipyretica.*

Bei den fünf ersteren habe ich das Archesporium an lebenden Präparaten untersucht, und bei dem letzteren an fixierten und gefärbten. Ich führe eine Beschreibung dieser Präparate nicht an, da ich nur einige Stadien angetroffen habe (Archesporium mittleren Alters), und außerdem war hier nichts Besonderes zu bemerken. Es sei nur hingewiesen auf die eigentümliche Form des Chloroplasten bei *Dicranodontium* nach vollendeter Teilung: der Chloroplast ist an dem Teilungsort eingebogen (Fig. 10, Taf. XX; auf der Fig. 11 links ist ein Chloroplast nach soeben erfolgter Teilung dargestellt).

Allgemeine Bemerkungen.

Das im vorigen geschilderte Material, sowohl lebendes als auch fixiertes, gibt uns im allgemeinen ein und dasselbe Bild des Verhaltens der Plastiden bei der Sporogenese der Laubmoose.

Das zur Umwandlung in das Archesporium bestimmte Gewebe schließt in jeder seiner Zellen einige oder viele Plastiden ein, in Form von Chloroplasten, in der für sie gewöhnlichen Form (Fig. 1—4, Taf. XIX).

Von dem Zeitpunkt an, in welchem dies Gewebe seine Umwandlung in das Sporengewebe beginnt, verlangsamt sich die Vermehrung der Chloroplasten (durch Teilung), und stellt sich bald ganz ein.

In den uns interessierenden Zellen werden wir eine sehr kleine Anzahl von Chloroplasten zu dieser Zeit finden, gewöhnlich vier bis fünf (Fig. 1—3, Taf. XIV; Fig. 5—6, Taf. XX und andre).

Diese Chloroplasten stellen sich paarweise (Fig. 3, Taf. XIV und andre) oder zu je drei (Fig. 6, Taf. XX) auf die Pole des Kernes ein und nach der Teilung dieses letzteren gehen sie in entsprechenden Quantitäten auf die Tochterzellen über, d. h. je zu zwei (Fig. 5, Taf. XIV) oder je zu drei (Fig. 4, Taf. XIV und andre).

Bei der folgenden Teilung der Zelle wiederholt sich prinzipiell dasselbe. Die Chloroplasten stellen sich wieder auf die Pole des Kernes ein, aber natürlich in einer andern Zahl: entweder — in den Zellen mit zwei Chloro-

plasten — zu je einem (Fig. 7, Taf. XIV; Fig. 8, Taf. XX), oder — in Zellen mit drei Chloroplasten — eins auf einen Pol und zwei auf den andern (Fig. 6, Taf. XIV; Fig. 7, Taf. XX).

Kraft dessen werden die neuen Tochterzellen entweder je einen Chloroplasten oder auch je zwei erhalten. Diese letzteren werden sich noch einmal teilen, so daß — am Schluß — in allen Zellen nur je ein Chloroplast vorhanden sein wird.

Wir haben jetzt ein junges Archesporium vor uns. In der Einzahl in der Zelle zurückgeblieben, wächst der Chloroplast in die Breite, in derselben Zeit auch dünner werdend. Er biegt sich dabei so ein, daß seine beiden Oberflächen parallel dem Kerne werden. Auf den senkrechten Durchschnitten sieht der Chloroplast zu dieser Zeit wie ein gebogener Streifen aus, welcher den Kern zur Hälfte seines Umfanges umschließt (Fig. 7, Taf. XX und andre).

Zugleich mit der fortschreitenden Entwicklung der Archesporzellen verläuft auch die Vermehrung der Chloroplasten. Sie vollzieht sich auf dem Wege der üblichen Teilung des alten Chloroplasten in zwei neue (Fig. 5, Taf. XVI; Fig. 8 u. 9, Taf. XVII und andre).

Die jungen Chloroplasten rücken auseinander und stellen sich gegeneinander auf die Kernpole ein (Fig. 10, Taf. XVII; Fig. 14, Taf. XIV und andre).

Sodann folgt die Kernteilung, wobei die Chloroplasten als Stützpunkte für die Zugfasern dienen (Fig. 21 u. 22, Taf. XX), und sodann die Teilung der Zelle, und wir haben wieder junge Zellen mit einem Chloroplasten vor uns (Fig. 11, Taf. XVII und andre).

Das wird so lange fortgesetzt, bis sich die Mutterzellen der Sporen ausbilden.

Zu dieser Zeit wird schon der Chloroplast sehr dünn und gewöhnlich farblos, somit in die Form des Leukoplasten übergehend.

In dem Gonotokonten, parallel zum Kern, vollzieht sich auch die Teilung der Plastide und zwar in der Weise, daß im Verlauf der Synapsis sich die Plastide das erste Mal teilt (in zwei) (Fig. 15, Taf. XVII; Fig. 24, Taf. XV und andre); — zur Zeit der Diakinese — das zweite Mal (Fig. 28, Taf. XV und andre) — und in der Metaphase stellt sich die Tetrade der jungen Plastiden in den Gonotokonten in tetraedrischer Anordnung ein (Fig. 31—34, Taf. XV—XVI und andre).

In der Interkinese stellen sich die Kernmassen in der Mitte eines jeden von den beiden Plastidenpaaren des Gonotokonten ein (Fig. 35, Taf. XVI) und die Spindel der zweiten (homeotypischen) Teilung besitzt auf ihren Polen je eine Plastide, welche als Stütze für ihre Zug-

fasern dient (Fig. 22, Taf. XVIII). Diese Lage der Spindel der zweiten Teilung richtet auch die Chromosomen nach den Plastiden, so daß nach der Teilung je ein junger Kern bei jeder von den vier Plastiden des Gonotokonten liegt (Fig. 23, Taf. XVI; Fig. 37, Taf. XVIII).

Der Gonotokont teilt sich sodann in vier Sporen, von welchen jede, auf Grund des oben Dargelegten, außer einem Kern, auch eine Plastide besitzt (Fig. 24 und 25, Taf. XVIII und andre).

In der reifenden Spore vermehrt sich die Plastide (Fig. 44—45, Taf. XVI) und beginnt gewöhnlich zu ergrünen, während sie in dem Gonotokonten farblos war.

Diese Untersuchungen beweisen sehr klar und bestimmt, daß die Plastide während des ganzen Sporenbildungsprozesses ihre Individualität ununterbrochen behält.

Wir verfolgten die Plastide von Schritt zu Schritt, von den ersten Entwicklungsstadien des Sporengewebes beginnend und mit der allotypischen Kernteilung des Gonotokonten und mit der Sporenbildung schließend, — und überall sahen wir, daß die Plastide sich nur durch Teilung vermehrt, ihr ähnliche Gebilde somit produzierend.

Die Beobachtungen an der Plastide bei der Kernteilung in den archesporialen Zellen und in den Gonotokonten beweisen in streng kategorischer Weise, daß die Teilungsfiguren der Plastide auch wirklich eben diese sind. Wir sahen des weiteren, daß die grünen Chloroplasten des jungen Archesporiums bei der Mehrzahl der untersuchten Arten ihre Färbung zur Zeit der Gonotokontenbildung verlieren und in die Form der farblosen Leukoplasten übergehen. Bei der Reifung der Sporen jedoch erhalten diese letzteren oft wieder eine grüne Farbe, in dieser Weise wieder in die Form der Chloroplasten übergehend.

Folglich kann die Plastide wirklich unbegrenzt ihre Form ändern, bald aus dem Leukoplasten ein Chloroplast werdend, bald jedoch wieder von neuem in den Leukoplasten sich verwandelnd.

Das Farbloswerden der Plastide in dem Archesporium ist um so merkwürdiger, weil die Zellen, welche in der Columella des Sporogons liegen, also folglich tiefer, entfernter vom Lichte als die archesporialen Zellen, doch noch grüne Chloroplasten besitzen.

Dieses Farbloswerden der archesporialen Plastiden wird somit durch besondere Ursachen hervorgerufen, von deren Beurteilung ich Abstand nehme.

Wie ich schon darauf hingewiesen habe, existieren in der Literatur keine Angaben über die Anwesenheit von Plastiden in dem Sporengewebe

der Laubmoose. Dessenungeachtet hat so mancher von den Forschern, welche die Sporenbildung bei diesen Pflanzen studiert hatten, in seiner Arbeit Plastiden angetroffen, aber er erkannte sie nicht, oder er bestimmte sie unrichtig.

In dieser Hinsicht werden die Angaben von HOFMEISTER am interessantesten sein.

Die Prozesse beschreibend, welche sich in der Sporenmutterzelle während der Sporogenese bei *Gymnostomum piriforme* vollziehen, sagt HOFMEISTER[1]), daß in dem Gonotokonten »zahlreiche Schleimkörnchen umgeben den centralen Zellenkern, dessen Inhaltsflüssigkeit völlig wasserklar ist. Bei weiterer Entwicklung der Frucht nähert sich der Kern der Sporenmutterzelle der Zellwand; dabei pflegt er Linsenform anzunehmen. Die Elementarkörnchen der Inhaltsflüssigkeit der Zelle häufen sich in deren Mittelpunkte zu einer kugeligen Gruppe, welcher bisweilen der Zellenkern zum Teil eingebettet ist. Diese Anhäufung von Körnchen teilt sich jetzt in zwei Hälften; manchmal läßt sich in jeder dieser Körnermassen ein kugeliger Zellenkern wahrnehmen. Jede der langgezogenen Gruppen von Schleim und Körnchen zerfällt aufs neue in zwei Teile; es finden sich jetzt vier sphärische Anhäufungen von grobkörnigem Protoplasma in der Mutterzelle. Sie ordnen sich in der Regel nach den vier Ecken eines Tetraeders; sehr selten liegen sie in derselben Ebene. Jede von ihnen umschließt einen Zellenkern. Die Umrisse des primären Kernes der Mutterzelle wurden während dieser Vorgänge immer unbestimmbarer, endlich entschwindet er völlig der Beobachtung. Um jeden der vier sekundären Zellenkerne bildete sich eine Spore« (S. 74—75). Wenn man diesen Text und die entsprechenden Abbildungen von HOFMEISTER mit dem vergleicht, was von mir für diese Moose angegeben wird (S. 382 ff.), so wird es ganz klar werden, daß HOFMEISTER Leukoplasten beobachtet hat, welche von Öltropfen umgeben sind, und sie als »sekundäre« Kerne betrachtete. HOFMEISTER sah auch dasjenige Entwicklungsstadium des Gonotokonten, in dem der Kern sich in der Synapsis befindet, da namentlich in diesem Moment »nähert sich der Kern der Zellwand« und »pflegt . . . Linsenform anzunehmen« (der synaptische Knäuel). Die Plastide (»Anhäufung von Körnchen«) liegt zu dieser Zeit auch wirklich in der Mitte des Gonotokonten, und der Kern ist »bisweilen zum Teile« von der Plastide bedeckt. Dieselben Bilder gibt HOFMEISTER auch für *Funaria hygrometrica*. Es ist jedoch nötig zu bemerken, daß eine wirklich tetra-

---

[1]) W. HOFMEISTER: Vergleichende Untersuchungen der Keimung, Entfaltung und Fruchtbildung höherer Kryptogamen usw. Leipzig 1851.

edrische Lagerung der Plastiden Hofmeister hier nicht gesehen hat, und seine diesbezüglichen Abbildungen, welche das obige darstellen sollten, stellen die Gonotokonten in ein und demselben Synapsisstadium vor, aber bei der Durchsicht von verschiedenen Seiten, wobei die Plastide von Öl ungleichmäßig bedeckt war.

Hofmeister konnte das oben Dargelegte nur aus dem Grunde sehen, weil er sich lebenden Materials bediente. Die Plastide jedoch in dem Archesporium an fixierten Präparaten zu erkennen, ohne sie vorher an lebenden zu untersuchen, ist fast unmöglich. Wenn deshalb Plastiden auch von andern Forschern beim Studium des Archesporiums angetroffen wurden, wurden sie jedoch als solche nicht erkannt. So ist z. B. die Plastide auf einigen Abbildungen bei Wilson[1]) (Fig. 2, 4, 13) in Form von weißen Punkten angeführt: nach meiner Erfahrung war die Plastide überdifferenziert.

Betreffend der Fig. 2, auf welcher fast ein ganzer Chloroplast flach unter oder über dem Kern liegend dargestellt ist, spricht Wilson: "In a considerable number of cases the protoplasm towards the centre of the cell appears to be less dense, and in the preparations forms a lightly-stain ed irregularlyshaped area arround the nucleus, sharply limited from the remaining protoplasm. At first sight, this suggests improper fixation, but examination of the other parts of the cell leads to the conclusion that this represents a real structural difference" (S. 143—144).

So steht es mit der Sache auch bei Boucherie[2]). Die Synapsis beschreibend, sagt er, daß in diesem Stadium das Plasma «est concentré en deux parties opposées de la cellule sous forme de deux calottes hemisphériques reliées latéralement par des portions amincies. Cette disposition, qui existe aussi bien sur les coupes longitudinales que sur les coupes transversales, peut-être considérée comme caractéristique de ce stade» (S. 1693).

Abbildungen gibt Boucherie keine, aber die Rede geht sicherlich über eine Plastide.

Was alles übrige anbelangt, so kann man die Abbildung des lebenden Archesporiums in der Literatur sehr oft finden, aber in seinen Zellen sind nur die Kerne angeführt. Wenn man ihre Größe mit derjenigen vergleicht, welche bei mir gezeigt worden ist, so wird es klar, daß in der Mehrzahl der Fälle diese »Kerne« teilweise (von einer Seite) durch die Plastiden-

---

[1]) M. Wilson: On Spore Formation and Nuclear Division in Mnium hornum. Ann. of Botany. XXIII. 1909.

[2]) E. Boucherie: Les phénomènes cytologiques de la sporogenèse chez le *Barbula muralis.* Compt. rend. d. l'Acad. d. Scienc. Paris. 156. 22. 1913.

kontur (in senkrechtem Durchschnitt) und teilweise (von der entgegengesetzten Seite) durch die Kontur des eigenen Kernes bedingt werden. Ich bin von der Richtigkeit meiner Bemerkung deshalb überzeugt, weil die Kernkonturen immer sehr schwach hervortreten, die Plastidenkontur jedoch tritt stets konstant und genügend scharf hervor, so daß sie immer als erste in die Augen fällt; nicht selten kommt es auch vor (besonders auf dicken Schnitten), daß in der Zelle des Archesporiums nur der Nucleolus und die Plastide in der Form eines Kreisbogens sichtbar sind.

Bevor wir zur weiteren Untersuchung des Verhaltens der Plastiden bei der Sporenbildung übergehen, möchte ich etwas bei einigen Teilungsstadien des Kernes, welche an lebenden Präparaten von mir beobachtet wurden, verweilen.

Während die gewöhnliche homeotypische Teilung schon mehrere Male an lebenden Objekten untersucht worden war[1]), existierten betreffend der allotypischen Teilung in der Literatur nur gesonderte Hinweise auf einige ihrer Stadien, und auch dann — soviel es mir bekannt ist — fast ausschließlich bei tierischen Objekten.

Die Gonotokonten einiger Laubmoose stellen in dieser Hinsicht ein sehr dankbares Objekt dar, da ihr Plasma eine flüssige Konsistenz besitzt, verschiedene Tropfen gibt es in ihm wenig — und bei genügender Übung kann man genügend leicht sämtliche allotypische Teilungsstadien verfolgen.

Dieser Umstand wird noch dadurch befördert, weil die Entwicklung der Gonotokonten bei den Laubmoosen, wie bekannt, von der Mündung des Sporogons aus sich vollzieht und nach der Richtung zu seiner Basis verspätet sich die Entwicklung beträchtlich; deshalb kann man auf einem und demselben Präparat fast immer Gonotokonten in verschiedenen Kernteilungsstadien finden.

Der Gonotokontenkern sieht anfangs punktiert aus (Fig. 22, Taf. XV und andre).

Diese Punktierung geht sodann in ein klares Fadengeflecht über. Zu derselben Zeit beginnt der Kern merklich sich im Volumen zu vergrößern, und es wird sichtbar, wie die Fäden sich von einer Seite der Kernmembran abreißen, namentlich von derjenigen Seite, bei welcher die

[1]) Die letzte große Arbeit gehört H. Lundegårdh (Die Kernteilung bei höheren Organismen nach Untersuchungen an lebendem Material. Jahrb. f. wiss. Botanik. 51. 1912). Bei ihm ist auch die Literatur der Frage zitiert.

Plastide liegt. Die Fäden reißen bald allmählich ab, bald auch mit einem Mal, wobei es vorkommt, daß einige von ihnen ziemlich lange an der Membran haften bleiben, so daß sie sich aus dem ganzen Knäuel hervorziehen, auf dem hyalinen Fond des Kernsafts (Fig. 25, Taf. XV) hervortretend.

An gelungenen Präparaten kann man eine solche Volumenvergrößerung des Kernes und das Fadenabreißen manchmal unvermittelt beobachten, und dann wird es klar, daß dieser Synapsisbildungsprozeß von einigen Minuten bis zu einer halben Stunde dauert. Die sich von der Kernmembran losreißenden Fäden führen auch den Nucleolus mit sich; augenscheinlich ist der letztere mit ihnen fest verbunden.

Die Kernfäden weisen bei aufmerksamer Untersuchung eine klare Knotenbildung auf, im allgemeinen, gleichen Distanzen (Fig. 23, Taf. XV und andre) auf.

Zugleich mit der Synapsisbildung verliert der Kern seine centrale Stellung in der Zelle und bewegt sich der Zellmembran zu, namentlich in derjenigen Richtung, wo die Fäden sich zusammenballen (Fig. 23, Taf. XV und die Photogr. Taf. XIII).

Hinter dem Kern bewegt sich auch die Plastide, welche jetzt das Centrum der Zelle einnimmt.

Die Fortbewegung des Kernes wird am wahrscheinlichsten durch seine Schwerpunktsverschiebung in der Richtung zu der betreffenden Seite bedingt.

Wie aus den Zeichnungen andrer Autoren zu schließen ist, welche die heterotypische Teilung studiert haben, ist eine solche exzentrische Lage des Kernes in der Synapsis fast konstant anzutreffen und wahrscheinlich für dieses Stadium charakteristisch.

Meine Beobachtungen über die Synapsisbildung sprechen alle dafür, daß hier die Ursache nicht in dem Zusammenballen der Fäden zu einer dichten Masse liegt, bei welchem sie sich von der Kernmembran aktiv losreißen müssen, sondern in der Volumenzunahme des Kernes, welche ein passives Zurückbleiben und Zusammenballen der Fäden bedingt.

Somit bestätigen die Beobachtungen an lebenden Gonotokonten im Prinzip diejenigen Schlüsse über Synapsisursache, zu welchen Lawson bei der Untersuchung eines fixierten Materials gelangte[1]).

---

[1]) A. A. Lawson: The Phase of the Nucleus known as Synapsis. Transactions of the R. Society of Edinburgh. XLVII. P. III. 1911. Siehe auch die Erwiderungen von J. B. Farmer in New Phytologist. XI. 1912.

Meine Beobachtungen zeigen nur (im Gegensatz zu der Ansicht von Lawson), daß die Kernfäden zunächst der auseinanderwachsenden oder der sich ausdehnenden Membran des Kernes folgen, und sich von ihr nur dann losreißen und zusammenballen, wenn ihre Dimensionen eine gewisse Grenze überschreiten. Man kann voraussetzen, daß die ausdehnende Membran die an ihr haftenden Fäden so lange auszieht, bis die letzteren, im Streben sich zu ihrer Anfangsdimension zusammenzuziehen, sich von der Membran losreißen.

Das Synapsisstadium dauert, je nach der Temperatur des Mediums, welches die Kultur umgibt, 3—5 Tage. Dieser Schluß ist nur ein indirekter aus vielzähligen und systematischen Untersuchungen der Gonotokonten, welche aus Sporogonen von verschiedener Reifheit herausgenommen wurden. Dieselbe Frist wird auch beim Vergleich der Synapsisdauer mit derjenigen andrer Kernteilungsstadien erhalten.

Nach der Bildung des synaptischen Knäuels beginnen seine Fäden sich zu verdicken, in derselben Zeit sich auch verkürzend, — und der Knäuel verringert sich im Volumen und wird dichter. Aber eine solche Verdichtung des synaptischen Knäuels verlangt etwa 24 Stunden (im Präparate).

Sämtliche übrigen Stadien habe ich nur gesondert gesehen, bei eingestellter Entwicklung, und ihre Folgerichtung kann auf zweifachem Wege bestimmt werden: erstens, in Verbindung mit dem Teilungsvorgang der Plastiden und zweitens, durch Vergleich mit andern Gonotokonten, welche in dem Sporogon niedriger und höher liegen als die untersuchenden. Das letztere kann man deshalb tun, weil — wie ich schon darauf hingewiesen habe — die Entwicklung des Gonotokonten an der Mündung des Sporogons früher beginnt, als an seiner Basis und wir folglich von einem bis zum andern Ende des Sporogons fortschreitend, allmählich von einem Kernteilungsstadium zum andern übergehen werden.

Es ist nur notwendig zu bemerken, daß man auf einem und demselben Sporogon sämtlichen allotypischen Teilungsstadien nur in ausschließlichen Fällen begegnen kann. Öfters jedoch geschieht es so, daß an dem Präparat Gonotokonten im Synapsisstadium sichtbar sind: oben im Sporogon in spätem, unten im Sporogon im Anfangsstadium. In denjenigen seltenen Fällen jedoch, wenn das Präparat spätere Stadien liefert, sind die letzteren bei ihm fast sämtlich vorhanden — vom Spirem bis zu den jungen Tetraden. Dieser Umstand zeigt direkt an, daß sämtliche postsynaptische Stadien unvergleichlich schneller als die Synapsis sich vollziehen, jede, am wahrscheinlichsten, nur einige Stunden dazu

gebrauchend, und einige (z. B. die Anaphase), wie es scheint, noch weniger Zeit.

Wie zur Zeit der Synapsis, so auch später, wenn die Kernfäden von neuem die Kernhöhle ausfüllen, gelang es mir manchmal ganz scharf zu sehen, daß sie zu parallelen Paaren gelagert sind, wobei die knotenförmigen Verdickungen der Fäden gewöhnlich einander gegenüber liegen (Fig. 30, Taf. XV und andre).

Zu der Zeit, als die Fäden die ganze Kernhöhle auszufüllen beginnen, vollendet die Plastide ihre erste Teilung und es sind ihrer in den Gonotokonten schon zwei vorhanden. In dieser Zeit bewegt sich der Kern zum Zellcentrum, sich zwischen beiden Plastiden bewegend, so daß die letzteren sich gegen seine Seiten einstellen, eine gegenüber der andren (Fig. 17, Taf. XVII).

Diese zweite Kernbewegung geschieht, wie ich es beobachtet habe, nicht mit einem Mal, sondern allmählich, nach Maß dessen, wie die Fäden die Kernhöhle füllen.

Das Stadium der Diakinese mit den Chromosomenpaaren (Fig. 18, Taf. XVII) trifft man nicht selten an: wie es scheint, verläuft dieses Stadium relativ schnell.

Sodann folgt die Metakinese (Fig. 22, Taf. XVIII; 33, Taf. XV). Ich traf sie nicht selten an, aber die Chromosomen an lebenden Präparaten zu zählen ist immerhin sehr schwierig: diesem ist auch die Feinheit der Strukturen hinderlich und die in dem angrenzenden Plasma sich befindenden Öltropfen (und Chondriosomen?), so daß einen Fehler zu begehen sehr leicht ist.

Das Auseinanderrücken der Chromosomen gelang mir unvermittelt nur zweimal zu beobachten und auch dann nur auf einer kurzen Strecke (Fig. 20*b*, Taf. XVIII).

Wodurch dieses Auseinanderrücken der Chromosomen bedingt ist, ist sehr schwer zu lösen. Ob dabei die sogenannten Zugfasern eine aktive Rolle spielen, wage ich nicht kategorisch zu behaupten, da diejenigen Bilder, welche ich beobachtet habe, verschiedene Interpretationen zulassen. An frischpräpariertem Material kann man bemerken, daß in der Metaphase zu beiden Seiten des Chromosomen-»Plättchens« eine fast völlig homogene hyaline Substanz liegt, von gewöhnlich konischer Form (Fig. 20*b*, Taf. XVIII), aber manchmal auch mit einem breiten oberen Ende (Fig. 20*a*, Taf. XVIII).

In dieser Substanz, welche man sogleich mit einer Kernspindel fixierter Präparate identifizieren kann, ist anfangs nichts den Zugfasern ähnliches zu bemerken. Nur in vereinzelten Fällen konnte man

etwas unterscheiden, was an ein Paar kurzer Fäden erinnert, welche die Spindel durchziehen.

Ein Teil von den Gonotokonten verblieb in dieser Form auch während einiger Tage, bis er unterging. Bei andern jedoch konnte man nach einigen Stunden nach der Präparierung, als die Quantität der Tropfen der ölförmigen Substanz sich im Plasma verminderte und das letztere klarer wurde, bald einige, bald eine ganze Reihe dünnster Fäden beobachten, meist von den Chromosomen abgehend und, an der Spindel in unweitem Abstand von den Chromosomen endend (Fig. 34, Taf. XVI); gelegentlich werden diese »Zugfasern« in der Mitte oder in dem sich verdünnenden Teil der Spindel sichtbar, aber bis zu den Chromosomen gelangen sie nicht.

Im allgemeinen jedoch sind solche »Zugfasern«, welche die ganze Spindel durchziehen, nur in seltenen Fällen anzutreffen (Fig. 20, Taf. XVIII).

Bei der ersten, heterotypischen Kernteilung habe ich einige Male beobachtet, daß die »Zugfasern« bis zu der äußeren Plasmaschicht reichen.

Nach 24—48 Stunden, als der Gonotokont merklich sich zu plasmolysieren begann, entstand in dem Plasma, an derjenigen Stelle, wo die Zugfasern anhafteten, eine kleine Vertiefung (Fig. 21, Taf. XVIII) und es machte den Eindruck, als ob die Zugfasern, keine Kraft besitzend die Chromosomen von der Mitte der Zelle »fortzuziehen«, die äußere Plasmaschicht veranlaßten sich einzustülpen, da sie mehr nachgiebig sei.

Bei der zweiten homeotypischen Kernteilung kann man nicht selten sehen, daß die »Zugfasern«, welche auch hier die hyaline Spindel durchziehen, bis an die Plastiden gelangen, welche immer an den Kernpolen lagern: es macht den Eindruck, daß die »Zugfasern« sich an den centralen Teilen der Plastide anheften, welche an diesem Ort sich konisch in der Richtung zu den Chromosomen ausstülpt (Fig. 22, Taf. XVIII). Hier kann man sich wieder vorstellen, daß die Zugfasern, welche einerseits mit der Plastide und anderseits mit den Chromosomen verbunden sind, sich zusammenziehen, und daß, da die Plastide mehr nachgiebig ist als die Chromosomen, als Resultat die erwähnte Ausstülpung der Plastide erscheint. Eine analoge Lage und Form der Plastiden habe ich auch bei der gewöhnlichen Kernteilung in dem Archesporium beobachtet, aber nur an fixierten Präparaten (Fig. 21 u. 22, Taf. XX).

Alle diese Tatsachen sprechen dafür, daß die »Zugfasern« der Spindel bei dem Auseinanderrücken der Chromosomen eine aktive Rolle spielen[1]).

[1]) Eine letzte zusammenfassende Kritik dieser Ansicht gibt H. Lundegårdh in seiner Arbeit: Chromosomen, Nucleolen und die Veränderungen im Protoplasma bei der Karyokinese. Beiträge zur Biologie d. Pfl. XI. 1912.

Auf diesem Wege kann man am leichtesten die geradlinige Form der »Zugfasern«, die beschriebenen Einstülpungen der äußeren Plasmaschicht und die Ausstülpungen der Plastiden erklären. Diese Tatsachen können jedoch, obgleich nicht so leicht, auch einer andern Interpretation unterliegen, welche von Lawson entwickelt wurde.

Lawson[1]) hat beobachtet (an fixiertem Material), daß, im Gegensatz zu der herrschenden Meinung, sich die Kernmembran, nach der Bildung der bivalenten Chromosomen, nicht auflöst: sie verschwindet nicht, sondern bleibt weiter erhalten, die Rolle einer durchlässigen plasmatischen Membran bei den sich sodann in der Zelle abspielenden osmotischen Prozessen spielend. Namentlich, nach der Ansicht von Lawson, verliert der Kern seinen Saft durch Exosmose und vermindert sich, wie die Präparate zeigen, in seinem Volumen. Diese Volumenverminderung des Kernes ruft ein Zusammenschrumpfen seiner Membran hervor, so daß die letztere im Schlußstadium dicht an den Chromosomen anliegt, sie von allen Seiten umschließend.

Infolge des oben Dargelegten beginnt jetzt das Plasma mehr Platz einzunehmen, und das letztere ruft in ihm wieder das Entstehen verschiedener Spannungen hervor, welche durch die Bildung von »Kinoplasma« und sodann auch von »Spindelfäden« ausgedrückt werden.

Nach der Ansicht von Lawson ist folglich die Spindel ein sekundäres Gebilde: "I can no longer regard the achromatic figure as an active factor in mitosis. It seems to be nothing more than a passive effect of nuclear osmotic changes" (S. 158).

Die von mir beobachteten und beschriebenen Einstülpungsfiguren der äußeren Plasmaschicht und die Ausstülpungen der Plastiden müßte man, nach der Hypothese von Lawson, als Erscheinungen ansehen, welche durch entsprechende Verteilung der Spannungslinien im Plasma hervorgerufen wurden.

Das Entstehen der »Zugfasern« erklärend, trägt Lawson fast nichts zum Verstehen der Ursachen des Auseinanderrückens der Chromosomen bei, und in dieser Beziehung hat die Hypothese, welche den »Zugfasern« eine aktive Rolle zuschreibt, etwas an sich Bestimmtes. Diese Hypothese ist aber z. Z. aus dem Grunde nicht annehmbar, weil wir gegenwärtig nicht davon überzeugt sein können, daß diese »Zugfasern« auch wirklich in dem lebenden Plasma existieren.

---

[1]) A. A. Lawson: Nuclear Osmosis as a Factor in Mitosis. Transactions of the R. Society of Edinburgh. XLVIII. P. S. 1912.

Meine Beobachtungen geben dafür keine einzige entscheidende Tatsache. Ich habe auch in der Tat nicht einmal im Leben Bilder beobachtet, welche auf den Fig. 20 und 21, Taf. XVIII, dargestellt sind. Sie unterscheiden sich jedoch ziemlich scharf von dem, was wir an fixiertem Material finden (z. B. Fig. 21—22, Taf. XX): solche schöne »Zugfasern« weisen lebende Präparate niemals auf.

Außerdem werden die von mir abgebildeten »Zugfasern« überhaupt oder wenigstens in einer solchen großen Anzahl nur einige Stunden nach der Präparierung bemerkbar, und dieser Umstand läßt schon an und für sich eine zweifache Erklärung zu.

Erstens kann man denken, daß die »Zugfasern« einfach das Resultat koagulativer Prozesse sind, welche schon lange vor dem Tode der Spindelsubstanz beginnen. Man kann aber auch voraussetzen, daß die Zugfasern in der »Spindel« in den unberührten Zellen existieren und auch nur dadurch nicht sogleich sichtbar werden, weil diesem die körnige Struktur des Plasmas und die Vielzahl der sich hin und her bewegenden Öltropfen hinderlich sind: nach Maß dessen, wie das alles verschwindet und sich das Plasma aufklärt, werden auch die Zugfasern sichtbar. Die zweite Erklärung ist bei unserm gegenwärtigen Wissenschaftsstandpunkt ebenso wahrscheinlich wie auch die erstere, um so mehr da diese Gebilde in vivo an der Grenze der Sichtbarkeit liegen.

Von andern von mir gesehenen Stadien werde ich noch auf die Interkinese hinweisen, wann die sich zum Knäuel zusammengedrängten Chromosomen in der Mitte zwischen dem entsprechenden Plastidenpaar liegen (Fig. 35, Taf. XVI), und auf den Moment der Funktionierung des Phragmoplasten. Ich habe das letztere einige Male beobachtet, wobei in ihm manchmal eine eigentümliche, kaum faßbare Streifung sichtbar war, welche an die Strömung einer Substanz erinnert, welche das Licht in andrer Weise bricht, als die Grundsubstanz des Phragmoplasten (Fig. 23, Taf. XVIII und andre).

Wir werden bei diesen Tatsachen nicht länger verweilen und um so mehr auch nicht zur Durchsicht der hierher gehörigen Literatur übergehen, da diese Fragen außerhalb der Grenzen der gegebenen Arbeit liegen. Wenn ich dessen ungeachtet auch bei ihnen etwas verweilt habe, so ist das aus dem Grunde geschehen, weil die allotypischen Teilungsbilder, in vivo beobachtet, schon an und für sich wichtig sind, und ich wollte die Aufmerksamkeit andrer Forscher auf die Gonotokonten der Laubmoose lenken, als auf ein Material, welches genügend bequem zum Studieren der Kernteilung in vivo ist.

Aus der Beschreibung der Sporogenese bei einzelnen Vertretern von

Laubmoosen (S. 382 ff.) ist zu ersehen, daß das charakteristische monoplastische Archesporium, d. h. ein solches, in dessen ruhenden Zellen nur je eine Plastide vorhanden ist, von mir bei allen Moosen gefunden worden ist, welche zu dieser Untersuchung genommen worden sind, namentlich: bei *Catharinea* (*Atrichum*), *Fissidens*, *Funaria*, *Physcomitrium*, *Amblystegium*, *Hypnum*, *Dicranodontium*, *Mnium*, *Bryum*, *Thuidium*, *Pogonatum* und *Fontinalis*.

Dieser Umstand gibt mir das Recht, den Schluß zu ziehen, daß das monoplastische Archesporium für die Laubmoose ein charakteristisches Merkmal ist.

Ein ebensolches monoplastisches Archesporium wird sich wahrscheinlich auch bei *Sphagnales* erweisen, wie man das erwarten darf, z. B. auf Grund einiger Abbildungen von Schimper[1]) (Taf. X, Fig. 10; Taf. XI, Fig. 8—10).

Der Schluß, zu welchem wir gelangten, zwingt uns auch, uns unter den den Laubmoosen benachbarten Pflanzen umzublicken, um zu sehen, wie sich die Plastiden in ihren Archesporien verhalten.

Die erste Pflanzengruppe, der sich zuzuwenden am natürlichsten ist, sind die Lebermoose.

Den Literaturangaben gemäß, besitzen bei den Lebermoosen, außer *Anthoceros*, die archesporialen Zellen und Gonotokonten immer eine große Zahl Chloroplasten (oder Leukoplasten). Entsprechende Angaben (im Text oder wenigstens auf Abbildungen) kann man bei einer großen Anzahl von Forschern finden, welche sich mit dem Studium der Sporogenese bei den Lebermoosen beschäftigten. Die Plastiden scheinen bei ihnen von keinem besonderen Interesse zu sein, und ich werde mich deshalb hier mit nur zwei bis drei Hinweisen begnügen. So zum Beispiel werden wir Plastiden bei der Sporogenese von Laubmoosen bei Davis[2]), sodann bei Moore[3]) und zuletzt bei Beer[4]) finden.

Meine eignen Untersuchungen des sowohl fixierten als auch lebenden Materials führten zu denselben Resultaten: das Archesporium der Lebermoose gehört zu den polyplastischen, in allen seinen Zellen sind einige oder mehrere Plastiden vorhanden. So ist z. B. eine Sporenmutterzelle von *Plagiochasma Aitoni* auf der Taf. XII, Fig. 26, dargestellt, welche

---

[1]) W. Ph. Schimper: Versuch einer Entwicklungsgeschichte der Torfmoose (*Sphagnum*). Stuttgart 1858.

[2]) Davis: Nuclear Studies on *Pelia*. Annal. of Botany. XV. 1901.

[3]) A. C. Moore: Sporogenesis in *Pallavicinia*. Botan. Gazette. XL. 1905.

[4]) R. Beer: On the Developement of the Spores of *Riccia glauca*. Ann. of Bot. XX. 1906.

nach einem lebenden Präparat gezeichnet wurde, und auf der Fig. 25 derselben Tafel ein fixierter Gonotokont in der Synapsis. Sowohl an dem ersten als auch an dem zweiten Präparat sind vielzählige Plastiden sichtbar, wobei man an dem lebenden Präparat bemerken kann, daß sie eine blaßgrüne Färbung besitzen. Diese Chloroplasten jedoch völlig zu sehen gelingt aber nicht oft, da die Beobachtungen ziemlich grobe Tropfen einer ölförmigen Substanz stören, welche die ganze Zelle vollfüllen.

Was jedoch *Anthoceros* anbelangt, so steht hier die Sache mit den Plastiden ebenso wie auch bei den Laubmoosen. Das Sporengewebe dieses Laubmooses wurde vielmals untersucht[1]), und diese Untersuchungen ergaben, daß sein Archesporium zu dem monoplastischen Typus gehört. Der junge Gonotokont enthält in sich anfangs nur eine Plastide eingeschlossen, welche sodann diejenige Teilung und die Bewegungen ausführt, welche den bei den Laubmoosen beschriebenen ähnlich sind.

Somit unterscheidet sich *Anthoceros*, welches ein monoplastisches Archesporium und ein Sporogon mit Spaltöffnungen besitzt, in dieser Hinsicht scharf von den Lebermoosen und tritt den Laubmoosen nahe. Aber dies nur in Beziehung zu den Sporogonen: die geschlechtliche Generation von *Anthoceros* steht jedoch, wie bekannt, ganz vereinzelt. Unter den andern Pflanzengruppen gelang es mir, monoplastische Archesporien noch bei *Lycopodiales* zu finden, wenigstens bei *Lycopodium* und *Selaginella*; *Psilotum* konnte ich jedoch, zu meinem Bedauern, nirgends erhalten.

In den Meristemzellen bei *Lycopodium inundatum* sind stets viele Plastiden vorhanden (Fig. 27, Taf. XIII), aber in dem Gewebe, welches sich in das Archesporium umwandelt, entsteht eine allmähliche Reduktion der Plastiden, nämlich auf demselben Wege, wie wir das bei den Laubmoosen beobachtet haben.

Zuletzt finden wir in den Zellen des Sporengewebes nur noch je eine Plastide (Fig. 1, Taf. XXI); die Untersuchung an lebendem Material ergibt, daß das Leukoplasten sind.

Vor einer jeden Kernteilung teilt sich zunächst die Plastide und die neuen Plastiden stellen sich auf die Kernpole ein (Fig. 2, Taf. XXI). Somit erhält eine jede neue Zelle des Archesporiums je eine Plastide von der Mutterzelle (Fig. 3, Taf. XXI).

Eine Plastide erhält aus demselben Grunde auch der junge Gonotokont.

---

[1]) Die letzte vollständigste Arbeit gehört B. Davis: The Sporemothercell of *Anthoceros*. Botan. Gazette. XXVIII. 1899. Hier ist auch die übrige Literatur angeführt.

In der Synapsis finden wir den Kern an der Zellwand des Gonotokonten und die Plastide in ihrer Mitte (Fig. 4 und 5, Taf. XXI) liegend.

In der späten Synapsis, wenn die Kernfäden sich langsam auseinanderzuflechten beginnen und der Kern sich allmählich zur Zellmitte hinbewegt, vollzieht die Plastide ihre erste Teilung (Fig. 6, Taf. XXI), und noch später, wenn das Kernspirem schon über die ganze Kernhöhle verteilt ist, finden wir schon zwei Plastiden in dem Gonotokonten, welche kreuzweise gegenüber liegen (Fig. 7, Taf. XXI). Weitere Stadien gelang es mir nicht zu sehen, aber das Verhalten der Plastiden muß hier das gleiche sein, wie auch bei den Laubmoosen, da die Tetraspore nur eine Plastide besitzt (Fig. 8, Taf. XXI).

Dasselbe findet auch bei *Selaginella emelliana* statt, mit nur derjenigen Differenz, daß auch die Scheitelzelle und die Gewebe meristematischen Charakters ebenfalls eine Plastide besitzen (Fig. 9, Taf. XXI)[1]). Auf der Abbildung ist eine Scheitelzelle mit zwei jungen Plastiden dargestellt, welche sich fast auf die Kernpole eingestellt haben.

Links und unter dieser Zelle ist eine andre Zelle zu sehen mit einer ruhenden, und unten rechts von ihr mit einer sich teilenden Plastide; in der oberen Zelle befinden sich die Plastiden schon an den Kernpolen.

In Anbetracht der schon angezeigten Eigentümlichkeit von *Selaginella* wird bei ihr das Archespor monoplastisch sein, ohne jegliche Reduktion der Plastidenzahl. Bei der Vermehrung der archesporialen Zellen geht die Plastidenteilung stets der Kernteilung voraus.

Sie vollzieht sich auf gewöhnlichem Wege vermittels einer Durchschnürung in der Mitte (Fig. 10, Taf. XXI); die jungen Plastiden stellen sich sodann auf die Kernpole ein (Fig. 11, Taf. XXI).

Bei der nachfolgenden Teilung erhalten die jungen Zellen je eine Plastide.

Der Versuch mit den Laubmoosen gibt uns das Recht, auch in dem jungen Gonotokonten ebenfalls eine Plastide zu erwarten, was ich auch in der Tat gefunden habe (Fig. 12, Taf. XXI).

In der Synapsis liegt der Kern an der Gonotokontenwandung, und die Plastide am Kern, in der Mitte der Zelle (Fig. 13, Taf. XXI); auf der Fig. 13*a*, Taf. XXI ist die Plastide von oben zu sehen.

Bei der weiteren Entwicklung der Synapsis beginnt die Plastide sich zu teilen (Fig. 14 u. 15, Taf. XXI), aber die nachfolgenden Stadien anzutreffen glückte mir nicht. Sie müssen aber hier prinzipiell

---

[1]) Siehe auch G. Haberlandt: Die Chlorophyllkörner der *Selaginella*. Flora LXXI. 1888.

die gleichen sein wie auch bei den Laubmoosen, da wir in der Tetraspore nur immer eine Plastide antreffen (Fig. 16, Taf. XXII). Bei der Sporenentwicklung ist eine Plastidenvermehrung nicht zu beobachten, und in den reifen Sporen, sowohl männlichen (Fig. 17, Taf. XXII), als auch weiblichen (Fig. 18, Taf. XXII), ist nur je eine Plastide vorhanden.

Somit sind in Hinsicht auf die Plastidenanzahl in dem sporogenen Gewebe die *Lycopodiales* völlig den *Musci* und *Anthoceros* analog, zusammen mit den letzteren diesen uralten Algencharakter besitzend, ungeachtet ihrer hohen Stellung in der Evolutionsreihe. Dieser Umstand, welcher für die *Lycopodiales* noch ein Merkmal liefert, das auch den *Musci* zukommt, ist auch in derjenigen Hinsicht interessant, daß er als ein schönes Beispiel für die Erscheinung der Nichtparallelität in der Evolutionsentwicklung einzelner Organe oder Gewebe einer und derselben Pflanze dient[1]).

Nach den Abbildungen und der Beschreibung von Fitting[2]) zu urteilen, werden wir bei *Isoetes* dieselben Verhältnisse der Plastide antreffen, wie auch bei den Laubmoosen, *Anthoceros*, *Lycopodium* und *Selaginella*.

Der von Fitting beschriebene »aus zahlreichen kleinen Stärkekörnern und grobkörnigem Plasma bestehende dunkle Klumpen« verhält sich bei der allotypischen Teilung im Gonotokonten ganz genau so wie dies die Plastide zu tun hat: dieselbe Lagerung an den Seiten des (synaptischen?) Kernes bei ihrer ersten Teilung (Fig. 10), die kreuzweise Lagerung beider Massen (der Plastiden) bei der zweiten Teilung (Fig. 11), die nachfolgende tetraedrische Anordnung (Fig. 13 u. 14) und die Befestigung an diese Massen (die Plastiden) der Kernspindel der zweiten, homeotypischen Teilung (Fig. 13). Eine jede Spore erhält je ein solches »Klümpchen« (Fig. 15, 16, 26), d. h. je eine Plastide.

Fitting spricht diese Gebilde für Plasmaklümpchen an, welche mit Reservestoffen angespeichert sind; nach dem aber zu urteilen, was wir bis jetzt über die monoplastischen Archesporien erfahren haben, sind das ohne Zweifel Leukoplasten, welche analog denen eines jeden andern monoplastischen Archesporiums sind. Dieselbe Erscheinung darf

---

1) Siehe N. Arber und J. Parkin: On the Origin of Angiosperms. Journ. of the Linn. Soc. Botany. XXXVIII. 1907.

2) H. Fitting: Bau und Entwicklungsgeschichte d. Makrosporen von *Isoetes* usw. Botan. Zeitung. LVIII. 1900.

man auf Grund der Untersuchungen von MARQUETTE[1]) auch bei *Marsilia* erwarten.

Bei der allotypischen Teilung entstehen aus einem Gonotokontenkern deren vier neue. In einem monoplastischen Gonotokonten entstehen aus einer Plastide zur Zeit der Diakinese vier neue, und bei den beschriebenen Pflanzen bleiben alsdann alle vier Plastiden und alle vier Kerne erhalten.

Bei *Closterium* und *Cosmarium* sind, nach den Angaben von KLEBAHN[2]), in der Zygote, sagen wir besser, in dem Gonotokonten normal zwei Plastiden vorhanden, welche auch bei der folgenden Kernteilung in der Ruhe zurückbleiben. Dessen ungeachtet teilt sich der Kern in vier neue, aber zwei von ihnen werden sodann reduziert, und jeder von den zwei Plastiden entspricht nur je ein einziger sich entwickelnder Kern.

KLEBAHN hat sodann zwei anormale Fälle beobachtet, wo in dem Gonotokonten, anstatt zweier Plastiden, drei oder eine vorhanden waren. Der Kern teilte sich auch hier immer in vier neue, von Interesse ist aber, den Umstand zu bemerken, daß im Gonotokonten mit einer Plastide drei Kerne vernichtet wurden, und im Gonotokonten mit drei Plastiden nur ein Kern zugrunde gegangen war.

Somit bleiben nach den angeführten Beispielen zu urteilen, deren Anzahl man noch vergrößern kann, in den monoplastischen Gonotokonten am Schluß der Teilung am Leben soviel Kerne, wieviel sich Plastiden dort befinden.

Diese Erscheinung hielt ich für nötig aus dem Grunde anzumerken, weil sie auf sehr wichtige Beziehungen zwischen der Plastide und dem Kern hinweist und folglich ein weiteres Studium verdient.

2. Chondriosomen.

Die Methodik.

Zur Fixierung der Sporogone wandte ich verschiedene Flüssigkeiten an, aber gute Resultate waren nur mit einer Mischung von Kaliumbichromat und Formalin (»Regaud«) zu erzielen, obgleich auch sie öfters nicht genügende, zusammengeschrumpfte Präparate liefert. Die Osmiumsäure (in Gestalt des »Flemmings«) ruft eine beständige Schwärzung der Öl-

---

[1]) W. MARQUETTE: Concerning the Organizazion of the Spore mother-cells of *Marsilia quadrifolia*. Trans. of the Wisc. Acad. of Scienc. Arts and Litters. XVI. 1908.

[2]) H. KLEBAHN: Studien über Zygoten. I. Die Keimung von *Closterium* und *Cosmarium*. Jahrb. für wissensch. Botanik. XXII. 1891.

tropfen in dem Archesporium hervor, und dieser Umstand hindert die Untersuchung sehr.

Von den Farbstoffen erwies sich als der beste Hämatoxylin.

Die Resultate.

Die nach der obigen Methode bearbeiteten Sporogone weisen in fast allen ihren Zellen Chondriosomen auf. Am besten sind diese Körperchen in dem Parenchym sichtbar (Fig. 1, Taf. XXII), wo man auch Mitochondrien und Chondriokonten finden kann. Ihre Dimensionen sind nicht groß; auf jeden Fall sind sie beträchtlich kleiner als die Plastiden, welche sich auch in denselben Zellen befinden.

Die archesporialen Zellen besitzen ebenfalls Chondriosomen, hauptsächlich Mitochondrien; Chondriomiten und Chondriokonten sind hier selten anzutreffen.

In dem jungen Archesporium (Fig. 2, Taf. XXII) fand ich Chondriosomen in einer nicht großen Anzahl, aber später wächst ihre Zahl an und dabei auch sehr stark (Fig. 3—5, Taf. XXII). Auf der Fig. 2, Taf. XXII, sehen wir eine Archesporzelle mit zwei großen Plastiden am Kern und mit zehn kleinen Chondriosomen im Plasma zerstreut.

Auf der Fig. 3, Taf. XXII, ist ein junger Gonotokont vor der Synapsis dargestellt. Im Centrum liegt der Kern und seitwärts von ihm eine Plastide (im Durchschnitt, in Form eines Fadens); vielzählige Chondriosomen füllen das Plasma aus, an einigen Stellen zu Kettchen sich gruppierend. Auf der Fig. 4, Taf. XXII, befindet sich der Gonotokont schon in der Synapsis. Die Plastide vollzieht ihre erste Teilung und es sind ihre zwei Kanten (im Durchschnitt) sichtbar. Die Chondriosomen sind in einer großen Anzahl über das ganze Plasma zerstreut.

Auf der Fig. 5, Taf. XXII, ist eine Tetrade junger Sporen dargestellt. Die Plastide liegt an dem Kern, und die kleinen Chondriosomen sind über das ganze Plasma zerstreut.

Somit sind die Chondriosomen in dem Archesporium, in den Gonotokonten und in den Sporen in einer größeren oder kleineren Anzahl vertreten und unterscheiden sich von den sich dort befindenden Plastiden sowohl durch ihre Form als auch durch ihre erheblich kleineren Dimensionen. Wir wissen schon, daß *während der ganzen Sporogenese die Plastide ununterbrochen ihre Individualität behält*, nur aus ihr ähnlichen Gebilden hervorgehend — *und dessen ungeachtet sind in sämtlichen sporogenen Zellen und Sporen*, wie wir das soeben gesehen haben, auch *Chondriosomen vorhanden*. Deshalb müssen wir konstatieren, daß bei der Sporogenese sich die Plastiden und die Chondriosomen als völlig unabhängige Gebilde verhalten.

B. Das Verhalten der Plastiden und der Chondriosomen im Protonema und in dem Stengel.

Die Methodik.

Die Plastiden fixieren sich im Protonema und in dem Stengel ohne besondere Schwierigkeit, aber die Chondriosomen werden hier nicht sehr oft erhalten [1]). Die besten Fixatoren sind die Flüssigkeiten, welche in sich Chromderivate, Osmiumsäure, Formalin enthalten, wobei den besten Erfolg die Mischungen von Kaliumbichromat und Formalin geben, aber nur nicht die sehr starken.

Die Osmiumsäure ist deshalb unangenehm, weil sie eine ständige Schwarzfärbung der Öltropfen hervorruft, dem man nur mit sehr großer Mühe ausweichen kann, und oft gelingt das überhaupt nicht; sodann kann man leicht »Übergangsstadien« zwischen den Plastiden und Chondriosomen auffinden.

Gute Präparate eines Protonemas und einer Scheitelzelle kann man im allgemeinen nur sehr selten erhalten, und ich wendete mich vielmals zu der freien Präparierung des lebenden Materials, welches sodann direkt auf dem Objektglase bearbeitet wurde. Und abgesehen davon, daß diese Arbeit viel Zeit verlangt und ungeheuer die Geduld in Anspruch nimmt, sind die besten von mir beobachteten Bilder hauptsächlich nach dieser Methode erhalten worden.

Von den Farbstoffen gab mir Hämatoxylin den besten Erfolg.

1. Das Protonema.

Die Protonemazellen sind immer mit sehr großen Chloroplasten gefüllt, welche sich sowohl in ruhendem Zustande als auch in allen Teilungsstadien befinden.

Unter günstigen Bedingungen kann man unter den Chloroplasten kleine glänzende Kügelchen und Stäbchen bemerken, und nach entsprechender Fixierung und Färbung sind an ihrer Stelle Mitochondrien und Chondriokonten zu beobachten (Fig. 1, Taf. XXIII). Die Plastiden unterscheiden sich hier scharf von den Chondriosomen schon durch ihre Größe allein, und von irgendwas, welches an Übergänge zwischen diesen zwei Zellengebilden erinnern könnte, kann auch keine Rede sein.

Die Plastiden vermehren sich auch in dem Protonema nur auf dem Wege der Teilung und sind von den Chondriosomen gänzlich unabhängig.

---

[1]) Es kommt jedoch so vor, daß die Chondriosomen sich aufbewahren und die Plastiden vernichtet werden, oder sie färben sich wenigstens nicht und scheinen zu fehlen.

2. Der Stengel.

Die Scheitelzelle des Stengels von *Polytrichum piliferum* Schreb., welcher auf sich Antheridien trägt, enthält in sich ziemlich viel große Plastiden eingeschlossen und noch mehr Chondriosomen, hauptsächlich Mitochondrien (Fig. 6, Taf. XXII).

Sowohl die Plastiden, als auch die Chondriosomen schwanken in ihren Dimensionen innerhalb ziemlich großer Grenzen, aber die Größendifferenz zwischen diesen beiden Gebildearten tritt immer ziemlich scharf hervor, und die allerkleinste Plastide ist doch bedeutend größer als das allergrößte Chondriosom.

In der Scheitelzelle des wachsenden Stengels (Fig. 7, Taf. XXII) sind auch die Plastiden und die Chondriosomen kleiner als bei einem Antheridienträger, aber die Differenz zwischen diesen Gebilden bleibt eine ebenso scharfe: wir werden hier keine »Übergangsstadien« finden. Umgekehrt sind hier die Teilungsfiguren der Plastide ziemlich oft anzutreffen.

Eine ebensolche scharfe Grenze zwischen den Plastiden und den Chondriosomen bleibt auch in den sich differenzierenden Zellen zurück, z. B. im Blatt, sowohl in einem jungen (Fig. 8, Taf. XXII), als auch in einem alten.

In den Zellen der gewöhnlichen Blätter treten die Plastiden scharf hervor, und die Chondriosomen sind fast ausschließlich durch Mitochondrien repräsentiert, in den Zellen jedoch der Blätter, welche die Antheridien umgeben, und in den mittleren Stengelteilen sind die Plastiden fast oder ganz unsichtbar, und die Chondriosomen besitzen hauptsächlich die Form sehr langer Chondriokonten (Fig. 9, Taf. XXII).

Völlig analoge Beziehungen zwischen den Chondriosomen und den Plastiden werden wir auch in dem Stengel von *Funaria hygrometrica* finden.

In der Scheitelzelle ihres Stengels sind sowohl Plastiden, als auch Chondriosomen vorhanden (Fig. 2 u. 3, Taf. XXIII), aber zwischen den einen und den andern liegt eine scharfe Grenze, hier existieren keine »Übergangsstadien«. Die Plastiden und die Chondriosomen schwanken ein wenig in ihren Dimensionen, aber die allerkleinsten Plastiden sind doch erheblich größer als die allergrößten Chondriosomen.

Die Plastiden sind hier in ihren verschiedenen Teilungsstadien anzutreffen, die Chondriosomen werden hier hauptsächlich durch Mitochondrien repräsentiert, obgleich bisweilen auch Chondriokonten und manchmal auch Chondriomiten anzutreffen sind.

Eine ebensolche starke Differenz zwischen den Plastiden und den Chondriosomen wird in allen übrigen Zellen und Blättern beobachtet. Sie bleibt auch an denjenigen Orten klar sichtbar, wo eine intensivere Zellteilung stattfindet, so z. B. in den sich zu entwickeln beginnenden Blättchen (Fig. 4, Taf. XXIII). Die Plastiden werden hier kleiner, aber eine klare Grenze zwischen ihnen und den Chondriosomen bleibt wie zuvor bestehen.

Mit dem Fortschreiten der Blattentwicklung wird diese Differenz immer stärker ausgeprägt. In den Zellen des jungen Blattes (Fig. 5, Taf. XXIII) werden wir annähernd dieselben Beziehungen finden, wie auch in der Scheitelzelle; in einem erwachsenen Blatte jedoch erreichen die Plastiden vergleichend enorme Dimensionen (Fig. 6, Taf. XXIII), während die Chondriosomen im wesentlichen dieselbe Größe wie auch in der jungen Zelle behalten; wenn sie sich hier auch als größer erweisen, so rührt das davon her, weil hier sehr viele lange Chondriokonten vorhanden sind.

Wir sehen somit, daß auch in der Scheitelzelle des Stengels wie auch in seinem übrigen Körper die Plastiden aus den Chondriosomen schon scharf durch ihre Größe hervortreten und verschiedene Figuren ihrer Teilung aufweisen, während irgendwas, das den Übergangsstadien zwischen diesen zwei Kategorien von Zellelementen ähnlich wäre, wir hier nicht finden können.

C. Das Verhalten der Plastiden und der Chondriosomen bei der Spermatogenese.

Die Literaturangaben.

Es sind in der Literatur keine Hinweise auf die Existenz von Plastiden in dem spermatogenen Gewebe, ja es existieren im Gegenteil sogar Behauptungen, daß die Plastiden bei ihrer Bildung resorbiert werden. So zum Beispiel begegnen wir bei Schimper [1]) vielmals Hinweisen in der Art des folgenden: »Den Mutterzellen der Antherozoen gehen, ähnlich wie bei vielen Algen, die Chromatophoren ganz ab; dieselben werden auf jüngeren Stadien der Antheridiumentwicklung entfärbt und resorbiert« (S. 47).

Schimper war ohne Zweifel immer unter demselben Einfluß von Schmitz auch in dieser Frage, da der letztere in bezug auf die höheren

[1]) A. F. W. Schimper: Unters. über die Chlorophyllkörper etc. Jahrb. wiss. Bot. Bd. XVI. 1885.

Algen dieselben Behauptungen anführt: »Dagegen läßt sich wieder . . . ein vollständiges Schwinden der Chromatophoren direkt feststellen bei der Bildung der männlichen Sexualzellen von *Fucus* und andern braunen Algen« (S. 138); analoge Behauptungen sind auch an vielen andern Stellen anzutreffen.

Was die späteren Forscher der Spermatogenese bei den Moosen anbelangt, so hat die Mehrzahl dabei die Plastiden gesehen, aber sie nur nicht erkannt; die Plastide wurde bald als besondere »Kinetosomen«, bald als Blepharoplast, als Centrosom, als geheimnisvolle »Nebenkörper«, oder als eine nicht weniger unbekannte »Limosphere« betrachtet.

Nur N. Walker[1]) sagt, daß die Chloroplasten in den jungen Antheridien vorhanden sind und sich sodann desorganisieren. Es ist jedoch am bequemsten, diese Arbeiten, nach der Auseinandersetzung der von mir gewonnenen Tatsachen, zu berühren.

Eigene Untersuchungen.

Die Methodik.

Die Antheridien tragenden Stengel habe ich mit Hilfe der Flemmingschen Flüssigkeit (starke Zusammensetzung) und des »Regaud« fixiert. Beide Zusammensetzungen liefern gute Resultate, aber nicht selten, besonders bei kräftiger Differenzierung des Präparats, kann man anstatt der Plastide Bilder sehen, in der Art eines Häufchens dunkler Körper mit einer zerrissenen Kontur, wie auf der Fig. 25, Taf. XXVI, oder jedoch — chondriosomenartiger Gebilde (in der Form von »Mitochondrien«, »Chondriokonten« und »Chondriomiten«), z. B. Fig. 48—50, Taf. XXV; wenn jedoch bei der Plastide, welche in den spermatogenen Zellen eine konvexe Form besitzt, der mittlere Teil abgeschnitten ist, so haben wir etwas vor uns, was zweien »Blephoroplasten« ähnlich ist, oder zwei »polare plates«, welche miteinander durch dünne Fäden verbunden sind: die fixierte Plastide ist oft von dunklen Fäden durchzogen (Fig. 49, Taf. XXV; Fig. 14, Taf. XIX).

Zum Nachweis der Chondriosomen hat sich am besten eine Mischung aus Formalin und Kaliumbichromat erwiesen (z. B. »Regaud«).

Gefärbt habe ich hauptsächlich vermittels Hämatoxylin, aber in einigen Fällen verwendete ich auch »Safranin + Gentianaviolett«, »Alizarin + Kristallviolett« und »Jodgrün + Fuchsin«.

---

[1]) N. Walker: Spermatogenesis in *Polytrichium*. Ann. of Botany. XXVII. 1913.

Die Beschreibung des Prozesses bei den einzelnen Vertretern.

Funaria hygrometrica (L.) Sibth.

In den Zellen des sich zu entwickeln beginnenden Sexualhaares sind immer viele Plastiden vorhanden (Fig. 8, Taf. XXIII), welche alsbald ihre Vermehrung verlangsamen oder ganz einstellen. Zu der Zeit des Beginnes der Bildung des spermatogenen Gewebes werden wir in den entsprechenden Zellen schon eine begrenzte Plastidenzahl finden (von grüner Farbe in vivo) (Fig. 1, Taf. XXIV), welche bei den nachfolgenden Teilungen der Zelle bis auf zwei bis drei und zuletzt bis auf eine reduziert wird.

Diese Reduktion der Plastidenzahl in der Zelle vollzieht sich auf demselben Wege wie auch bei dem Sporengewebe; während der Zeit, wo die spermatogenen Zellen sich vermehren, bleibt ihre Plastidenzahl dieselbe, deshalb kommen auf den Anteil einer jeden neuen Zelle immer weniger und weniger Plastiden.

Schon dann, wenn die Plastiden in der Zelle in einer Anzahl von zwei zurückbleiben, und auch von drei, beginnt ihre Auswachsung in die Breite (Fig. 2, Taf. XXIV), welche völlig dem analog ist, was wir bei der Sporogenese beobachtet haben, und auf den senkrechten Durchschnitten sieht die Plastide immer dünner aus. Nach zwei bis drei Generationen wird sie schon sehr dünn (Fig. 5, Taf. XXIV) und ist gewöhnlich in der Zelle in der Art eines dünnen Streifens bemerkbar (Fig. 6, Taf. XXIV), nicht selten mit einer Konvexität, welche der Oberfläche des Kernes parallel ist (Fig. 7, Taf. XXIV; 30, Taf. XXV).

Auch diese Erscheinung ist uns schon aus der Sporogenese bekannt.

Einer jeden Zellteilung des spermatogenen Gewebes geht immer eine Plastidenteilung voraus (Fig. 3 u. 8, Taf. XXIV), worauf sich die jungen Plastiden auf die Kernpole einstellen, eine gegenüber der andren (Fig. 4 u. 9, Taf. XXIV; 31, Taf. XXV). Beim Auseinanderrücken der Chromosomen befestigen sich die Zugfasern der Kernspindel an die Plastiden, und an ihnen kann man eine Reihe von Ausstülpungen in der Richtung zu den Chromosomen bemerken (Fig. 10, Taf. XXIV). Am Ende der Teilung liegen die jungen Kerne jeder bei einer Plastide (Fig. 11, Taf. XXIV). Die sich sodann bildende neue Scheidewand teilt die Mutterzelle in zwei Tochterzellen, welche ebenfalls monoplastisch sein werden. Und auch alle diese Bilder sind uns aus der Beschreibung des Sporenbildungsprozesses gut bekannt, und deshalb werde ich hier auf die Einzelheiten nicht eingehen. Die anfangs große Plastide wird mit jeder Teilung immer kleiner und kleiner und, wie dies lebendes Material zeigt, geht sie aus der grünen Farbe ins Farblose über.

Diese allmähliche Dimensionsverkleinerung der Plastide tritt besonders anschaulich hervor auf der Fig. 12, Taf. XXIV, wo einige entsprechende Stadien zusammengestellt sind. In *a* ist die Plastide noch vergleichsweise groß, in *b* ist sie schon erheblich kleiner, in *c* noch kleiner und in *d* und auf der Fig. 13 ist die Plastide schon vor ihrer letzten Teilung sichtbar.

Sie vollzieht sich auf gewöhnlichem Wege: in der ausgezogenen Plastide erscheint in der Mitte eine Durchschnürung (Fig. 33, Taf. XXV), welche die Plastide in zwei durchschneidet (Fig. 34, Taf. XXV), und das junge Paar rückt zu entgegengesetzten Seiten auseinander (Fig. 35, Taf. XXV), bis es sich auf die Kernpole einstellt.

Während des Auseinanderrückens der Chromosomen geht die Kernspindel dicht zu diesen kugelförmigen Plastiden heran und, da sich dabei das Plasma zuweilen in Form von Fäden fixiert, welche bei der Plastide zusammentreten (Fig. 14, Taf. XXIV), könnte man sie ohne weiteres für ein Centrosom halten, wenn uns nicht ihre ganze Entwicklungsgeschichte bekannt wäre.

Ein ebensolches »fadenförmiges« Aussehen des Plasmas ist auch in der Spermatide zu bemerken (Fig. 15, Taf. XXIV).

In der heranreifenden und in der reifen Spermatide liegt, wie es scheint, die Plastide dicht dem Kern an: das kann man auch auf der Fig. 16, Taf. XXIV, sehen, wo noch der Nucleolus sichtbar ist, und auf der Fig. 17 derselben Tafel, wo der Nucleolus schon verschwunden ist.

Sodann beginnt die Entwicklungsperiode des Spermatozoids.

Der Kern wird konvex (Fig. 18, Taf. XXIV) und die Plastide stellt sich seitwärts zu ihm ein, wie das auf der Fig. 19, Taf. XXIV, gut zu sehen ist. Noch weiter, und der Kern ist nach seiner Form einem jungen Monde ähnlich (Fig. 20, Taf. XXIV), wobei die Plastide noch immer seiner Seite anliegt. Der Kern wird immer dünner und dünner (Fig. 21 bis 23, Taf. XXIV) und sieht zuletzt wie ein dicker Faden aus. In diesem und manchmal auch in dem vorhergehenden Stadium kann man sehen, daß die Plastide nicht wie bis jetzt dem Kern anliegt, sondern von ihm etwas absteht (Fig. 24, Taf. XXIV), die Mitte der Zelle einnehmend, aber sodann sehen wir die Plastide wieder beim Kern (Fig. 25, Taf. XXIV), auf seiner Mitte. In der Folge rückt die Plastide allmählich zu dem hinteren Ende des Kernfadens herab (Fig. 26, Taf. XXIV), bis sie auf ihm sitzend erscheinen wird (Fig. 27, Taf. XXIV): es liegt vor uns ein fertiges Spermatozoid. Während seiner Bewegungen verliert die Plastide ihre kugelförmige Form und, sich in der Richtung der Bewegung ausdehnend, wird sie eiförmig oder birnenförmig (Fig. 28, Taf. XXIV).

In den Präparaten, welche mit der Mischung aus Formalin und Kaliumbichromat fixiert wurden, werden wir in allen beschriebenen Zellen außer der Plastide auch Chondriosomen finden. Sie sind auch in den Zellen des Sexualhärchens vorhanden (Fig. 8, Taf. XXIII und 29, Taf. XXV) und auch in den spermatogenen Zellen, sowohl jungen (Fig. 30, Taf. XXV) als auch mittleren Alters (Fig. 31, Taf. XXV), und alten (Fig. 32, Taf. XXV). Chondriosomen besitzen auch die Spermatiden (Fig. 36 und 37, Taf. XXV).

Der Unterschied zwischen diesen Zellen besteht, wie ich zu bemerken vermochte, nur darin, daß in der Spermatide nur ein wenig Chondriosomen[1]) vorhanden sind und dabei fast ausschließlich in der Form von Mitochondrien, während bei den vorhergehenden Zellen stets viel Chondriosomen vorhanden und immer in Form von Chondriokonten anzutreffen sind.

Die Chondriosomen unterscheiden sich scharf von den Plastiden durch ihre erheblich kleineren Dimensionen; nichts ist dabei zu finden, was an Übergangsstadien von den Chondriosomen zu den Plastiden erinnern könnte.

Polytrichum piliferum Schreb.

Auch bei diesem Moos wird das Verhalten der Plastide bei der Spermatogenese dasselbe sein, wie bei *Funaria hygrometrica.*

Die Plastide hat zuerst große Dimensionen (Fig. 1, Taf. XXV), aber allmählich, mit jeder Teilung, wird ihre Größe kleiner (Fig. 2—5, Taf. XXV), bis eine kugelige Form entstehen wird (Fig. 6, Taf. XXV).

Zusammen mit der Verkleinerung ihrer Dimension wird die Plastide immer dünner und dünner, wie man das auf der Fig. 4, Taf. XXV, sehen kann.

Einer jeden Zellteilung geht immer eine Plastidenteilung voran, welche sich auf gewöhnlichem Wege vollzieht: in der Mitte der sich ausgezogenen Plastide entsteht eine Durchschnürung (Fig. 7—9, Taf. XXV), welche die Plastide in zwei durchschneidet. Die jungen Plastiden rücken auseinander zu entgegengesetzten Seiten (Fig. 10, Taf. XXV) und stellen sich auf die Kernpole ein (Fig. 11, Taf. XXV).

Der bei der jungen Spermatide vorhandene Nucleolus (Fig. 6, Taf. XXV) verschwindet alsbald, und der Kern nähert sich der Zellseite (Fig. 12, Taf. XXV).

---

[1]) Daran ist vielleicht auch das ungenügende Fixieren schuld.

Ein wenig später erscheint am Rande der Zelle, welchem der Kern anliegt, ein dünner Blepharoplast, welcher den Kern umgibt und nicht selten dicht an die Plastide herantritt (Fig. 13, Taf. XXV).

Der Kern beginnt sich sodann einzubiegen und sich auszuziehen (Fig. 14—17, Taf. XXV), dabei nimmt er eine fadenförmige Form zuerst auf seinem vorderen Ende an (Fig. 18 u. 19, Taf. XXV), so daß am längsten der hintere Kernteil verdickt zurückbleibt.

Die Plastide, welche bis jetzt dicht am Kern an einer seiner Seiten lag (Fig. 15—18, Taf. XXV), steht jetzt von dem Kern ab (Fig. 19, Taf. XXV). Sie bleibt zuerst dort liegen, in der Zellenmitte, auch dann, wenn der Kern schon fadenförmig geworden ist (Fig. 20, Taf. XXV), kommt aber dann an seine Mitte (Fig. 21, Taf. XXV) und bewegt sich alsbald seinem Ende zu (Fig. 22, Taf. XXV): es liegt vor uns ein fertiger Spermatozoid, welcher zu dieser Zeit auf seinem vorderen Ende auch ein paar Geißeln entwickelt.

Bei der Bewegung des Spermatozoids zieht sich die Plastide aus, eine birnförmige Form annehmend (Fig. 23, Taf. XXV): das kann man an fixierten Präparaten und auch an lebenden Objekten beobachten.

Wir sahen somit, daß auch bei *Polytrichum* während der ganzen Spermatogenese die Plastide individuell bleibt, nur durch Teilung sich vermehrend. Ungeachtet dessen sind in allen diesen Zellen, wie die angeführten Abbildungen zeigen, auch Chondriosomen vorhanden, hauptsächlich Mitochondrien. Wir sehen sie in den Zellen sowohl des jungen (Fig. 1 u. 2, Taf. XXV) als auch des erwachsenen spermatogenen Gewebes (Fig. 4 u. 5, Taf. XXV) und in den Spermatiden (Fig. 6 u. 12, Taf. XXV). In den Zellen des jungen Gewebes sind ziemlich viel Chondriosomen vorhanden, aber alsdann vermindert sich ihre Zahl und in den Spermatiden werden wir ihrer zwei oder drei finden. Was die reifen Spermatozoiden anbelangt, so kann man auch an ihnen sehr oft und möglicherweise auch stets Mitochondrien beobachten; sie sitzen dabei auf der Plastide (Fig. 21—23, Taf. XXV).

»Übergangsstadien« zwischen den Chondriosomen und den Plastiden werden wir auch bei *Polytrichum* keine finden: diese zwei Kategorien von Zellelementen differieren zu stark untereinander.

Bryum sp.[1])

Die Spermatogenese vollzieht sich auch bei diesem Objekte ebenso, wie auch bei den zwei beschriebenen, und ich werde deshalb bei ihr nur

[1]) Die Art konnte nicht bestimmt werden wegen der Abwesenheit von Sporogonen.

kurz bei den einzelnen Stadien verweilen; wir werden sie auf der Taf. XXV finden (Fig. 41—47). Die Fig. 41 stellt den Zellinhalt des Sexualhärchens dar, vor der definitiven Bildung des spermatogenen Gewebes; um den Kern herum sind vier Plastiden gelagert, und weiter sind zwei Chondriokonten, zwei Chondriomiten und drei Mitochondrien sichtbar. Nach zwei Teilungen wird in den Zellen je eine Plastide zurückbleiben.

Die Fig. 42 gibt eine Zelle des spermatogenen Gewebes mittleren Alters wieder; die Plastide ist in senkrechtem Durchschnitt sichtbar, in der Art eines dünnen Streifchens, welches den Kern mehr als um die Hälfte umschließt. Die Chondriosomen sind fast ausschließlich durch Mitochondrien repräsentiert.

Die Fig. 43 zeigt eine Plastide im Teilungsmoment und auf der Fig. 44 befinden sich die Plastiden schon an den entgegengesetzten Kernpolen. Die Chondriosomen sind in einer vergleichsweise nicht großen Anzahl sichtbar und sind teilweise durch Mitochondrien, teilweise durch Chondriokonten repräsentiert.

In der Spermatide besitzt die Plastide schon eine kugelförmige Form (Fig. 45), und die Zahl der Chondriosomen ist auf 1—2 reduziert.

Auf der Fig. 46 sehen wir den Kern fadenförmig und die Plastide ihm angepreßt; auf der Plastide sitzt ein Chondriosom und in dem schwindenden Plasma ist ein zweites sichtbar.

Ein analoges Stadium ist auch auf der Fig. 46*a* sichtbar, wo nur ein Teil des fadenförmigen Kernes mit der an ihm liegenden Plastide dargestellt ist; an die letztere haben sich zwei Mitochondrien angepreßt.

Beim reifen Spermatozoid (Fig. 47) sitzt die Plastide auf seinem hinteren Ende und besitzt eine birnförmige Form; auf der Plastide sind sehr oft, und möglicherweise auch immer, ein bis zwei Mitochondrien vorhanden.

Auch bei diesem Moose verhält sich im Laufe der ganzen Spermatogenese die Plastide ganz unabhängig, und irgendwelche Gebilde, welche als Übergangsstadien zwischen den Chondriosomen und den Plastiden betrachtet werden könnten, finden wir nirgends.

Allgemeine Bemerkungen.

Wie wir das soeben gesehen haben, ist das Verhalten der Plastiden bei der Spermatogenese fast bis auf ihre letzten Stadien mit dem ähnlich, was wir in dieser Hinsicht über die Sporogenese wissen.

Das Gewebe, welches sich in das spermatogene umwandelt, weist dieselben Erscheinungen auf, wie auch das Gewebe, welches sich in das Archespor umwandelt. In den entsprechenden Zellen finden wir auch

hier einige Chloroplasten (Fig. 1, Taf. XXIV), welche ihre Vermehrung verlangsamen oder gänzlich einstellen, und — da die Zellen sich in ihrer Zahl zu vermehren fortsetzen — so kommen auf den Anteil der Tochterzellen, mit jeder neuen Teilung, immer weniger und weniger Chloroplasten, bis sie zuletzt in den jungen spermatogenen Zellen auf nur einen reduziert werden (Fig. 3, Taf. XXIV und andre).

Schon vordem beginnen die in der Zelle zurückgebliebenen zwei bis drei Chloroplasten sich auszudehnen und zu verdünnen (Fig. 29, Taf. XXV und andre), und auch in dem spermatogenen Gewebe sehen wir sie in Form dünner Plättchen, welche parallel zum Kern eingebogen sind und welche den letzteren bis ungefähr auf die Hälfte umgeben. Auf den senkrechten Schnitten erscheint die Plastide um diese Zeit in der Form eines dünnen eingebogenen Fadens (Fig. 7, Taf. XXIV; 42, Taf. XXV und andre).

In Einzahl in der Zelle zurückgeblieben, verläßt die Plastide ihren inaktiven Zustand und teilt sich vor jeder Zellteilung in zwei (Fig. 8, Taf. XXIV; 7—9, Taf. XXV und andre). Die jungen Plastiden gehen nach den Kernpolen auseinander und stellen sich einander gegenüber ein (Fig. 9, Taf. XXIV; 44, Taf. XXV und andre). Während der Kernteilung heften sich die Zugfasern seiner Spindel an die Plastiden an, ihre zu dem »Chromosomenplättchen« gerichteten Teile in der Richtung des letzteren ausziehend (Fig. 10, Taf. XXIV). Bei ihrem Auseinanderrücken sammeln sich die Chromosomen bei den Plastiden an und zuletzt, nach der Bildung einer neuen Scheidewand, erhalten die Tochterzellen je eine Plastide.

Mit jeder neuen Teilung vermindert sich die Plastide in ihren Dimensionen und geht aus der grünen Farbe ins Farblose über: der Chloroplast verwandelt sich in den Leukoplast. Anfangs besitzt er dieselbe flache Form, welche für den Chloroplasten charakteristisch ist, aber in den Endstadien der Spermatogenese, wenn der Leukoplast seine minimalste Größe erreicht, wird seine Form kugelförmig (Fig. 12 u. 15, Taf. XXIV; 34 bis 37, Taf. XXV und andre). Deshalb darf man vermuten, daß die Plastidenform in erheblichem Grade eine Funktion ihrer Größe ist.

Bei der Reifung des Spermatozoids klebt sich die Plastide an den mittleren Teil des fadenförmigen Kernes an (Fig. 25, Taf. XXIV; 46, Taf. XXV und andre), und kriecht sodann auf sein hinteres Ende über, die bekannte Verdickung hinter dem fertigen Spermatozoid bildend (Fig. 27 u. 28, Taf. XXIV und andre).

Somit behält die Plastide ihre Individualität auch bei der Spermatogenese ununterbrochen bei; dessen ungeachtet sind

in allen spermatogenen Zellen dicht bis an das Spermatozoid heran scharf von den Plastiden unterscheidbare Chondriosomen vorhanden, ohne jegliche »Übergangsstadien« von den letzteren zu den ersteren.

Die oben auseinandergesetzten Tatsachen geben uns die Möglichkeit, diejenige Reihe der spermatogenen Zellgebilde richtig zu bestimmen, welche von andern Forschern unter dem Namen »Kinetosome«, »Limosphere«, »Nebenkörper« und teils »Centrosom« und »Blepharoplast« beschrieben wurden.

Mit den »Kinetosomen« kommen wir zu Allen[1]).

Nach seiner Behauptung unterscheiden sich die Zellen des spermatogenen Gewebes, "by the absence of plastids and starch grains, and by the presence of a rather dense reticular cytoplasm", in welchen sich "a distinctly-outlined, dark-staining substance" befindet (S. 131). Dieses Gebilde, welches Allen "Kinoplasmic body" und "polar plate" nennt, hat das Aussehen eines Plättchens von verschiedener Dicke und liegt in der Nähe des Kernes, den letzteren in der Form eines Bogens umgebend. Vor der Kernteilung teilt sich diese "polar plate" in zwei und "daughter plates" rücken zu entgegengesetzten Seiten auseinander, bis sie sich auf die Kernpole einander gegenüber einstellen.

Sehr oft hat Allen an Stelle der "polar plate" beobachtet "a number of smaller bodies lying close together or in contact", und zwischen diesen letzteren Gruppen und dem kompakten »Plättchen« sind die allermöglichsten Übergänge anzutreffen.

Deshalb schließt Allen, daß "the plates and the groups of smaller bodies — which will be referred to as Kinetosomes — are mutually equivalent, being merely different forms assumed by the same substance" (S. 134).

Dieser Schluß ist von Allen ganz richtig gemacht worden, da auch seine "polar plates" und "kinetosomes" nichts andres darstellen als eine und dieselbe Plastide.

Nur im ersteren Falle sind sie gut fixiert und gefärbt, in dem zweiten jedoch — schlecht. Das tritt ganz klar hervor bei der Vergleichung der Abbildungen von Allen mit den unsrigen. Diejenigen Abbildungen von Allen, wo eine kompakte "polar plate" dargestellt ist (z. B. Fig. 1—10, 35, 57 und viele andre), werden uns sofort an die Plastide in den spermato-

---

[1]) Ch. E. Allen: Cell Structure, Growth and Division in the Antheridia of *Polytrichum Juniperinum* Willd. Arch. f. Zellforsch. VIII. 1912.

genen Zellen erinnern, welche auf meinen Abbildungen wiedergegeben sind (Fig. 6—11, Taf. XXIV; 30 u. 42, Taf. XXV und andre), oder in den Zellen des Archesporiums (Fig. 9, Taf. XX; 15—18, Taf. XIV und viele andre), welche vom lebenden Objekt abgezeichnet worden sind, wo man die Plastiden anfangs grün gefärbt sehen kann.

Ich habe schon auf den Umstand hingewiesen, daß, wenn eine verhältnismäßig große konvexe Plastide, mit welcher wir in dem Archesporium und in dem spermatogenen Moosgewebe zu tun haben (z. B. Fig. 14, Taf. XIX; 49, Taf. XXV), zur Hälfte ihrer Dicke abgeschnitten sein wird oder sogar einfach überdifferenziert, sie sodann wie zwei fadenförmige Plättchen aussieht, zwischen welchen »Zugfasern« durchziehen; und namentlich nicht in der Gestalt von geraden Linien, sondern als sich biegend und verzweigend, d. h. gerade so, wie das von Allen auf vielen seiner Abbildungen dargestellt worden ist (z. B. Fig. 7, 8 usw.).

An überdifferenzierten Präparaten sieht die Plastide sehr oft aus wie eine Gruppe nicht großer dunkler Punkte (Fig. 25, Taf. XXVI): das werden die »Kinetosomen« von Allen sein. Die fadenförmige Struktur der Plastide ist nicht selten auch in diesen Fällen bemerkbar: nach Allen werden das »Kinetosomen« sein, welche mit Fibrillen verbunden sind. Zu der Zeit, wenn die Plastide nach einigen Teilungen immer dünner und dünner wird, kann man manchmal auch diejenigen Bilder beobachten, welche Allen auf den Fig. 66—90 und 123—125 unter dem Namen "central-body" und "Blepharoplast" dargestellt hat, nur die Plastidenfäden sind hier zu scharf wiedergegeben. Ein Teil von diesen "central bodies" und den »Blepharoplasten« kann auch denjenigen Entwicklungsstadien der Plastide bei der Spermatogenese entsprechen, welche bei mir auf der Fig. 14, Taf. XXIV, dargestellt sind; in diesen Fällen werden die von der Plastide abgehenden Fäden zu dem Plasma gehören.

Somit halte ich sämtliche Gebilde, welche von Allen unter dem Namen "polar plates", "kinetosomes", "central bodies" und "blepharoplastes" beschrieben sind, auf Grund meiner Untersuchungen für nichts andres als Plastiden, welche nicht genügend gut fixiert worden oder schlecht gefärbt und unrichtig interpretiert sind.

Gehen wir jetzt zur »Limosphaere« über, einem Ausdruck, welcher von M. Wilson[1]) geschaffen wurde. Diese soll ein kugelförmiger Körper sein, welcher in den letzten Stadien der Spermatogenese auftritt und sich durch Hämatoxylin schwarz färbt. Wilson vergleicht sein »Limosphaere« mit dem »Nebenkörper«, welchen J. und W. Docters van Leeu-

[1]) M. Wilson: Spermatogenesis in the Bryophyta. Ann. of Botany. XXV. 1911.

wen-Reijvaan[1]) bei *Polytrichum* und Arens[2]) bei *Mnium* beobachtet haben, und tut dieses sehr richtig, da sowohl die »Limosphaere« als auch der »Nebenkörper« die uns schon gut bekannte kugelförmige Plastide der Spermatide und des Spermatozoids darstellen (z. B. Fig. 12—23, Taf. XXV und andre).

Auf vielen Abbildungen von Wilson ist die »Limosphaere« in Form von Fäden, Stäbchen, Punkten usw. dargestellt. Wie meine Beobachtungen es zeigen, werden das alles Überreste einer Plastide sein, welche schlecht fixiert und ungenügend gefärbt worden ist; ich habe schon öfters erwähnt, daß an fixierten und gefärbten Präparaten die Plastide nicht selten die Form von Flecken, Fäden, Punkten usw. hat (siehe z. B. die Fig. 48 u. 50, Taf. XXIII; 7, Taf. XXV); analoge Bilder sind auch bei Wilson dargestellt worden, aber ein Teil ihrer Punkte und, möglicherweise auch ihrer Linien, gehört ohne Zweifel den Chondriosomen an.

Der Ausdruck »Nebenkörper« (dabei »chromatoider«) ist in die botanische Literatur von Ikeno[3]) eingeführt worden. Mit diesem Namen wird bei ihm ein in der Spermatide bei *Marchantia* auftretender »ziemlich grober sphärischer Körper«, von unbekannter Herkunft und von ebenso unbekannter Bestimmung bezeichnet, welcher sodann bei der Spermatozoenbildung verschwindet.

Diesen »Nebenkörper« haben sodann bei den Hepaticae auch andre Forscher beobachtet, welche sich mit der Spermatogenese dieser Pflanzen beschäftigten. So haben z. B. den »Nebenkörper« E. Bolleter[4]) bei *Fegatella conica*, H. B. Humphrey[5]) bei *Fossombronia longiseta* usw. beobachtet.

Daß dieser »Nebenkörper« eine Plastide darstellt, kann man schon aus dem einfachen Vergleich der entsprechenden Abbildungen von Ikeno und andrer Forscher mit den meinigen, welche für die *Musci* angeführt sind, sehen.

Um aber meiner Behauptung eine größere Beweiskraft zu geben, werde ich hier in kurzem einige Stadien der Spermatogenese beschreiben, welche von mir bei *Marchantia polymorpha* beobachtet worden sind. Sie sind auf den Fig. 1—18, Taf. XXVI, wiedergegeben.

---

[1]) Recueil d. trav. botan. néerlandais. IV. 1907.

[2]) P. Arens: Zur Spermatogenese d. Laubmoose. Bonn. 1907.

[3]) S. Ikeno: Beiträge zur Kenntnis d. pflanzlichen Spermatogenese: Die Spermatogenese von *Marchantia polymorpha*. Beihefte z. Bot. Ctbl. XV. 1903.

[4]) E. Bolleter: Ibidem. XVIII. 1905.

[5]) H. B. Humphrey: Ann. of Botany. XX. 1906.

Die Fig. 1 zeigt einen Zellkern aus dem Gewebe, welcher sich in das Spermatogene umwandelt, von vier Plastiden umgeben und auf der Fig. 2 von drei Plastiden.

Weiter (Fig. 3) finden wir schon zwei Plastiden und, zuletzt, nur eine.

Die Plastide beginnt sodann sich auszudehnen und sich zu verdünnen (Fig. 4 u. 5) und in den nachfolgenden Stadien sieht sie schon sehr dünn aus.

Einer jeden Kernteilung geht immer eine Teilung der Plastide voran; sie vollzieht sich auf gewöhnlichem Wege, vermittels der Durchschnürung, welche in der Mitte der sich ausgezogenen Plastide entsteht (Fig. 7 u. 8). Die jungen Plastiden rücken auseinander (Fig. 9) und stellen sich auf die Kernpole einander gegenüber ein (Fig. 10). Nach der Teilung wird deshalb in den Tochterzellen je eine Plastide vorhanden sein (Fig. 11).

Die Plastiden von *Marchantia* besitzen manchmal auch in dem spermatogenen Gewebe Stärke (Fig. 7, 15 u. 16) und nehmen manchmal Formen an (Fig. 12—16), welche lebhaft an Chondriokonten und junge Leukoplasten erinnern. In der Spermatide und in einer oder zwei Generationen vor ihr besitzt die Plastide schon eine Kugelform, wie das auf den Abbildungen von Ikeno, Bolleter und andern unter dem Namen »Nebenkörper« gezeigt worden ist.

Wenn sich der Spermatidenkern zu einem Faden auszieht, bleibt die Plastide anfangs auf der Zellmitte (Fig. 17), klebt aber sodann dem Kern an (Fig. 18) und kriecht auf das hintere Ende des letzteren über. Hier sitzt sie auch an dem freien reifen Spermatozoid: am besten ist das auf den Fig. 35 und 36 bei Humphrey zu sehen, welcher den irrtümlichen Schluß zog, daß der »Nebenkörper« zwischen dem Kern und dem Blepharoplast sich lagert.

Was die andern erwähnten Forscher der Spermatogenese bei den *Bryophyta* anbelangt, so zeigen sie alle, daß der »Nebenkörper« während der Spermatozoidbildung verschwindet. Richtige (wenn auch nicht ganz) Angaben werden wir nur bei N. Walker[1]) finden: "The spermatozoid has now completed its development and consists of a spirally coiled band derived from the nucleus, carrying a pair of cilia at its anterior extremity, and at the posterior end the remains of the deeply stained sphere or ‚Nebenkörper'" (S. 126). Wir wissen schon, daß am Ende des Spermatozoids sich eine volle Plastide befindet und nicht ihr "remains", und dieses ist sehr gut auch auf den Abbildungen von Walker selbst sichtbar.

---

[1]) N. Walker: On spermatogenesis in *Polytrichum*. Ann. of Botany. XXVII. 1913.

Walker versucht zu zeigen, daß dieser »Nebenkörper« einen Klumpen Chromatin darstellt, welcher aus dem Kern abgestoßen worden ist, aber er zieht seine Schlüsse auf irrtümlichen Beobachtungen basierend.

Meine Untersuchungen zeigen sehr klar, daß der »Nebenkörper« völlig der Plastide entspricht; und daß er nicht Chromatin ist, kann man auch aus der violetten Färbung des uns interessierenden Körpers in Alizarin + Kristallviolett schließen, in welchem das Chromatin eine rubinrote Farbe annimmt.

Das Verhalten der Plastiden bei der Spermatogenese, insbesondere diejenige Lage, welche sie bei der Kernteilung aufweisen, zwingt zu dem Gedanken, daß in der Literatur über die Spermatogenese bei den Pflanzen die von allen vergessene Plastide einen nicht kleinen Wirrwarr bedingt hat, und das Problem der »Centrosomen« und teilweise der Blepharoplasten muß einer neuen Durchsicht, in Verbindung mit den Plastiden (und Chondriosomen), unterworfen werden. Die Frage liegt aber außerhalb der vorliegenden Untersuchung und ihr gedenke ich eine spezielle Arbeit zu widmen.

Hier will ich aber ein wenig bei einem andern Umstand verweilen.

Meine Untersuchungen zeigten, daß der Spermatozoid von *Bryophyta* an seinem hinteren Ende eine Plastide schleppt. Man kann ihre bildliche Darstellung bei fast allen Forschern finden, welche sich mit den Moosspermatozoiden beschäftigt haben. Es existieren sogar Angaben, daß in dieser Anschwellung des Spermatozoidenendes manchmal Stärke anzutreffen ist. So zum Beispiel weist D. H. Campbell[1]) darauf hin, daß bei dem Spermatozoid von *Sphagnum* »am hinteren Ende liegt ein stark lichtbrechender Klumpen«, welcher »mit Jod behandelt . . . sich schnell dunkelblau färbt . . .« (S. 124—125). Eine ebensolche »masse amylacée« fand an dem hinteren Ende des Spermatozoids bei *Sphagnum* auch Guignard[2]). Von Interesse ist noch zu bemerken, daß Schimper[3]) diese hintere Anschwellung bei *Sphagnum* mit einer grünen Farbe andeutet.

Wir wissen nun anderseits, daß das Spermatozoid bei *Pteridophyta* an seinem hinteren Ende ein »Plasmabläschen« faßt, und deswegen

---

1) D. H. Campbell: Zur Entwicklungsgeschichte d. Spermatozoiden. Ber. d. deutsch. bot. Ges. V. 1887.

2) M. L. Guignard: Developpement et constitution d. anthérozoides. Revue générale de Botanique. I. 1889.

3) W. Ph. Schimper: Versuch einer Entwicklungsgesch. d. Torfmoose. Stuttgart. 1858.

entsteht die natürliche Frage, ob dieses »Bläschen« vielleicht ein Homolog der Plastide bei den Moosspermatozoiden sein wird.

In der Literatur sind in dieser Hinsicht zwei Meinungen vorhanden: die Mehrzahl der Forscher betrachtet diese Anschwellung des hinteren Spermatozoidenendes bei den *Bryophyta* als ein ebensolches Bläschen wie auch bei *Pteridophyta*. STRASBURGER[1]) spricht jedoch die umgekehrte Ansicht aus: »An den fast fertigen Spermatozoiden bildet sie (das Plasma) nur noch einen dünnen Beleg an der Innenseite des mittleren Teiles, schwillt aber zu größerer Dicke an der Innenseite des hinteren Teiles an . . . Später wird die Innenseite des mittleren Teiles des Spermatozoids von dem cytoplasmatischen Beleg ganz befreit, der hintere Teil behält denselben. Das Spermatozoid von *Pellia calycina* nimmt keine Blase, doch diesen cytoplasmatischen Beleg mit auf den Weg« (S. 130).

Wenn wir anstatt des »cytoplasmatischen Belegs« die Plastide setzen werden, so werden wir anerkennen müssen, daß STRASBURGER sich der Wirklichkeit mehr als alle andern Forscher genähert hat.

Somit trägt der Spermatozoid bei den Bryophyten am hinteren Ende eine Plastide und bei den *Pteridophyta* einen Plasmaklumpen.

So viel man nach den Abbildungen von SHARP[2]) urteilen kann, hat man zu erwarten, daß die Plastiden im Spermatozoid der *Pteridophyta* sich längs des Kernes lagern und daß es überhaupt notwendig sein wird, sämtliche spermatogene Gewebe (und die Spermatozoide) nach der Plastidenanzahl, ähnlich den Archesporien, in zwei Gruppen einzuteilen: in eine monoplastische und eine polyplastische. Zur ersten gehören die *Bryophyta* und, wahrscheinlich, die Characeae, *Lycopodiales*, *Isoetes* und viele andre (wenn auch nicht alle) Algen, zu der zweiten Gruppe jedoch gehören, wie es scheint, alle übrigen *Pteridophyta* und die Samenpflanzen (obgleich teilweise). Alles dieses sind natürlich nur Vermutungen, welche nur durch nachfolgende Untersuchungen bestätigt oder wiederlegt sein werden.

D. Das Verhalten der Plastiden und der Chondriosomen bei der Ovogenese.

Die Methodik.

Die Plastiden wurden in der Eizelle von vielen Forschern beobachtet, aber ihre Angaben besitzen jetzt keine definitive Bedeutung, da damals

[1]) E. STRASBURGER: Schwärmsporen usw. Hist. Beitr. IV. 1892.

[2]) L. W. SHARP, Spermatogenesis in *Equisetum*. Botan. Gazette. LIV. 1912.

noch die Chondriosomen unbekannt waren, und die Bildung der Plastiden aus diesen letzteren konnte einfach übergangen worden sein.

Deshalb müßten die ovogenen Gewebe einer neuen Revision unterworfen werden und dabei mit Hilfe von Methoden, welche zum Nachweise der Chondriosomen dienen.

Bei meinen Untersuchungen bediente ich mich fast ausschließlich der Flüssigkeit von Regaud und der Hämatoxylinfärbung.

Resultate.

In den Zellen der haarförmigen Gebilde von *Funaria hygrometrica*, welche sich in Archegonien umwandeln, werden wir auf sämtlichen Stufen ihrer Entwicklung große Plastiden und kleine Chondriosomen finden. So zum Beispiel in dem dreizelligen Härchen, welches auf der Fig. 9, Taf. XXIII, dargestellt ist, sehen wir überall viele Plastiden, welche sich scharf von den Chondriosomen durch ihre Größe unterscheiden und welche sich in verschiedenen Teilungsstadien befinden; die Mehrzahl der Plastiden ist hier flach ausgelegt, und ein Teil von ihnen ist, auf dem Rande liegend, sichtbar. Die Chondriosomen sind hier sowohl durch Mitochondrien als auch durch die Chondriokonten und durch die Chondriomiten repräsentiert.

Wir werden hier keine Übergänge zwischen den Chondriosomen und den Plastiden finden: zwischen den einen und den andern liegt überall eine scharfe Grenze.

Dieselben Beziehungen zwischen den Plastiden und den Chondriosomen werden auch später aufbewahrt, bei der Entwicklung des Archegoniums.

Große Plastiden und kleine Chondriosomen, ohne jegliche Übergänge zwischen ihnen, werden wir auch in den Zellen der sich entwickelnden Scheidewand des Archegoniums (Fig. 19, Taf. XXVI), und auch in der mittleren Reihe seiner Zellen, welche die Grundlage für die Eizelle bilden (Fig. 21, Taf. XXVI) und zuletzt selbst in dem Ei (Fig. 22, Taf. XXVI) finden. Die Plastiden weisen hier überall ihre verschiedenen Teilungsfiguren auf, und die Chondriosomen sind hier durch ihre sämtlichen Formen repräsentiert.

In der sich nun zu entwickeln beginnenden mittleren Zellenreihe des zukünftigen Archegoniums werden die Plastiden größer sein, in der Art derjenigen auf der Fig. 19, Taf. XXVI, und sodann, zusammen mit den weiteren Teilungen der entsprechenden Zellen, werden sie kleiner. Dabei werden wir die allerkleinsten Plastiden in der oberen Zelle dieser mittleren Reihe finden (Fig. 20, Taf. XXVI), weiter nach unten werden sie

jedoch etwas größer sein (Fig. 21, Taf. XXVI). Aber die Differenz in der Größe, und — im allgemeinen — in der Form zwischen den Plastiden und den Chondriosomen wird auch in dieser oberen Zelle ebenso stark erhalten.

In einem jungen Ei (Fig. 22, Taf. XXVI) werden wir noch nicht wenige sich teilende Plastiden finden, aber in einem reifen Ei sind solche schon, wie es scheint, nicht mehr vorhanden.

Außer bei *Funaria* habe ich noch die Ovogenese bei *Bryum* sp. untersucht und fand bei ihm immer dieselben Bilder. Ich führe hier nur die Abbildung der Eizelle an (Fig. 23, Taf. XXVI), da alles übrige nur eine Wiederholung von dem sein würde, was wir bei *Funaria* anführten.

Wie auch bei der letzteren (Fig. 22, Taf. XXVI) enthält die Eizelle von *Bryum* in sich viele Plastiden eingeschlossen, welche durch ihre Größe scharf aus dem Chondriom hervortreten, das auch durch Mitochondrien, Chondriokonten und Chondriomiten repräsentiert ist. Wir werden auch bei *Bryum* hier nichts finden, was den »Übergangsstadien« zwischen diesen zwei Kategorien von Zellelementen ähnlich wäre.

Somit treten die Plastiden im Laufe der ganzen Entwicklungszeit des Archegoniums und auch in der Eizelle vom Chondriom scharf durch ihre Größe hervor und vermehren sich durch Teilung. »Übergangsstadien« jedoch sind hier zwischen den Chondriosomen und den Plastiden auch keine vorhanden.

Aus dem vorigen Abschnitt wissen wir, daß der Spermatozoid der Moose mit sich eine Plastide führt. Ob sie bei der Befruchtung in die Eizelle gelangt oder nicht[1]), gelang mir nicht aufzuklären, aber für die vorliegende Aufgabe hat diese Frage keine besondere Bedeutung, da die Eizelle schon an und für sich eine große Anzahl Plastiden besitzt, welche sodann in das Embryo übergehen, ihre Individualität ununterbrochen erhaltend.

E. Das Verhalten der Plastiden und der Chondriosomen im Embryo.

Die Methodik.

Das Untersuchungsmaterial habe ich mit den Flemmingschen Mischungen, mit der Mischung von Regaud, mit Formalin und Kaliumbichromat fixiert.

---

[1]) In dieser Hinsicht wäre es sehr interessant, *Anthoceros* zu untersuchen.

Am besten erwies sich der »kräftige Flemming« und »Regaud«, obgleich die Arbeit mit ihnen auch große Vorsicht in Beziehung zu den Öltropfen verlangt: Schöne »Chondriosomen« (geschwärztes Öl) kann man manchmal hier wie auch in den Scheitelzellen des Stengels auch in ungefärbten Präparaten finden, welche mit Flüssigkeiten fixiert worden sind, in deren Zusammensetzung Osmiumsäure oder sogar Kaliumbichromat eingeht[1]). Hier muß man viel Arbeit zur Entfernung des Öls und zur konstanten Kontrolle der noch ungefärbten Präparate verwenden.

Resultate.

Die Scheitelzelle sowohl eines allerjüngsten, als auch eines großen Embryos besitzt in der untersuchenden Beziehung denselben Charakter, wie auch beim Stengel. Wir finden auch hier vergleichend große Plastiden, die scharf und ohne irgendwelche »Übergänge« aus dem Chondriom hervorragen (Fig. 24, Taf. XXVI). Sogar die Plastiden, welche auf ihrer Kante liegen und welche deswegen dünn erscheinen, können doch sofort von den Chondriokonten unterschieden werden. In jeder Scheitelzelle des Embryos werden wir stets sich teilende Plastiden finden, welche nicht selten auch in vergleichend großer Anzahl anzutreffen sind.

Das Chondriom ist hauptsächlich aus Mitochondrien zusammengesetzt, und Chondriomiten werden viel seltener angetroffen. Die Plastiden des Embryos, welche schon in der Scheitelzelle groß beschaffen sind, werden in den nach unten liegenden Zellen noch größer, die Dimensionen der Plastiden in den Blattzellen erreichend. Auch hier werden wir keine »Übergangsstadien« zwischen den Plastiden und den Chondriosomen finden.

Somit verhalten die Plastiden auch im Embryo sich ganz unabhängig von den Chondriosomen, sich nur durch Teilung vermehrend.

Allgemeine Schlüsse.

Die Untersuchung der Moose zeigte uns mit völliger Klarheit, daß in allen ihren Geweben und Zellen, welche unter sich einen geschlossenen Cyclus der ontogenetischen Entwicklung des Mooses bilden — nämlich von der Spore über das Protonema, über die Scheitelzelle des Stengels und das embryonale Gewebe, über das Archesporium (mit den Gonotokonten) und von neuem bis zur Spore —, in sämtlichen diesen kritisch wichtigen Teilen des Mooskörpers entstehen die Plastiden aus ihnen ähnlichen

[1]) Diese Erscheinung ist besonders oft bei *Hepaticae* zu beobachten.

Gebilden, sich auf gewöhnlichem, gut bekanntem Wege vermehrend. Mit andern Worten, in dem ganzen ontogenetischen Cyclus des Mooses behält die Plastide ihre Individualität ununterbrochen bei.

Zu gleicher Zeit haben wir aufgeklärt, daß in allen Geweben und Zellen des Mooses sich auch Chondriosomen befinden, welche sich scharf von den Plastiden durch ihre Größe und teilweise auch durch ihre Form unterscheiden.

Diese Tatsachen führen zu dem einzig möglichen Schluß, daß die Plastiden und die Chondriosomen gesonderte und voneinander unabhängige Kategorien von Zellelementen darstellen[1]).

Aus dem ersten Teil meiner Arbeit, wo nach den Literaturangaben die Lage der zu interpretierenden Frage aufgeklärt wurde, wissen wir schon, daß bezüglich des Plastidenproblems gegenwärtig drei verschiedene Hypothesen[2]) existieren. Eine von ihnen lehrt, daß die Plastiden sich aus den Chondriosomen bilden, wobei die Mehrzahl der entsprechenden Forscher (Pensa, Lewitsky, Guilliermond, Forenbacher) die Plastiden durch ein Auseinanderwachsen der Chondriosomen herleitet: auf jeden Fall entsteht aus einem Chondriosom nicht weniger als eine Plastide; einige jedoch (Nicolosi-Roncati) finden umgekehrt, daß zur Bildung einer Plastide einige Chondriosomen sich verschmelzen müssen.

Eine andre Hypothese (Schmidt, Meyer?, Lundegårdh?) zählt sämtliche uns augenblicklich interessierenden Gebilde zu den embryonalen Plastiden, von welchen ein Teil in den auswachsenden Zellen in den aktiven Zustand übergeht und sich in seinen Dimensionen vergrößert.

Zuletzt, die dritte Hypothese (Rudolph), betrachtet die Plastiden und die Chondriosomen als selbständige, voneinander unabhängige Gebilde, welche in den Meristemgeweben nur einander ähnlich sind.

Diese Existenz dreier Hypothesen in einer und derselben Frage ist nur darum möglich geworden, weil nur die Samenpflanzen untersucht wurden, bei welchen, wie wir das in dem ersten Teil dieser Arbeit veri-

---

[1]) Schon nach dem Erscheinen meiner ausführlichen Arbeit in russischer Sprache hat A. Scherrer in Ber. d. d. bot. Ges. XXXI, 8, eine Arbeit veröffentlicht, in welcher er seine Untersuchungen an *Anthoceros* mitteilte, die den meinigen sehr gleichen. Er konnte aber nicht die Chondriosomen in der Scheitelzelle und im älteren spermatogenen Gewebe (hier auch keine Plastiden) finden.

[2]) Wenn man nicht die wenig wahrscheinliche, bei Seite stehende Hypothese über die Herkunft der Plastiden aus dem Chromatin des Kernes zählt (v. Derschau, Schiller, Stauffacher).

fiziert haben, alle entsprechenden Meristemgebilde eine chondriosomenartige Form besitzen. Eine Ausnahme bildet vorläufig nur *Oenothera biennis*, bei welcher gewöhnlich auch in den Meristemzellen die Plastiden klar aus dem Chondriom hervorragen. Eine definitive Lösung gibt, wie wir gesehen haben, auch *Oenothera* nicht.

Umgekehrt hat unsre Untersuchung der Moose zu dem kategorischen Schluß geführt, daß die Plastide und das Chondriom voneinander unabhängig sind.

Dieser Schluß muß auf Grund einfacher logischer Betrachtungen auch auf sämtliche obenstehende Pflanzengruppen ausgedehnt werden, und damit auch auf die Samenpflanzen. Wir müssen annehmen, daß in den Meristemzellen auch der Samenpflanzen die Plastiden und die Chondriosomen unabhängig voneinander existieren, daß aber ihre äußersten Formen einander ähnlich sind und deshalb keine Möglichkeit geben, zwischen diesen zwei Kategorien von Zellelementen eine genügend klare Grenze zu ziehen. Die letztere tritt nur mit dem Anfang der Differenzierung der Zellen auf. Wir müssen diesen Schluß annehmen, da man anders eine logisch unwahrscheinliche Voraussetzung zulassen müßte, daß bei den niederen Pflanzen die Plastide und das Chondriom voneinander unabhängig sind, bei den höheren Gruppen jedoch die Plastide aus irgendeinem Grunde ihre Individualität verliert und sich aus dem Chondriom zu entwickeln beginnt. Und diese sowohl in logischer als auch in phylogenetischer Beziehung inkonsequente Voraussetzung müßte man zu dem alleinigen Zwecke machen, damit in der Frage über die Herkunft der Plastiden bei den höheren Pflanzen wieder von neuem dieselben drei erwähnten Hypothesen auftauchen.

Die Rolle der Plastiden ist uns schon lange, obgleich auch nur teilweise, bekannt, was jedoch das Chondriom anbelangt, so haben wir sogar seine Herkunft noch ungenügend studiert. Einige Forscher (z. B. Arnoldi[1]), von Derschau l. c.) leiten die Chondriosomen vom Kern ab, andre (z. B. Lewitsky l. c., Lewschin[2])) betrachten sie als Funktionsprodukte des Cytoplasmas[3]), die dritten wieder (z. B. Guilliermond l. c.) sind geneigt, den Chondriosomen eine Individualität zuzuschreiben, in der Art derjenigen, welche wir bei den Plastiden finden. In dieser Hinsicht kann

---

1) W. Arnoldi: en collab. avec L. Bönicke: Sur l'appareil chromidial chez quelques plantes Gymnospermes et Angiospermes. Biologiske Arbejder telegneder G. Warming. 1911. Siehe auch G. Tischler im Jahrb. f. wiss. Bot. XLII. 1906.

2) A. M. Lewschin: Zur Frage über die Chondriosomen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. XXXI. 1913.

3) Siehe auch B. Němec: Das Problem der Befruchtungsvorgänge. Berlin 1911.

man sich nur der Ansicht von ARNOLDI [1]) anschließen, daß unter dem Namen »Mitochondrien« alle möglichen, was Entstehung und Funktion anbelangt, verschiedenen Bildungen zusammengeworfen werden (S. 159). Einen analogen Gedanken treffen wir auch bei einigen andern Autoren an[2]).

Noch weniger wissen wir über die Rolle der Chondriosomen im Leben der Zelle: diese Frage steht vorläufig nur im ersten Anfange ihrer Untersuchung [3]).

Die Untersuchung der Sporenbildung bei den Laubmoosen, welche zudem noch an lebendem Material ausgeführt worden ist, hat uns mit aller Schärfe bewiesen, daß die Plastide sich auch wirklich durch Teilung vermehrt und namentlich mit Hilfe einer Mittendurchschnürung, wie das bis jetzt angenommen wurde. Die biskuitförmige Form der Plastide repräsentiert folglich auch ihre wirkliche Teilungsfigur.

Dieselbe Untersuchung bewies uns auch, daß eine und dieselbe Plastide je nach der Notwendigkeit, bald grün (Chloroplast), bald farblos (Leukoplast) werden kann, wobei diese Farbenänderung sich in unbegrenzter Zahl wiederholen kann.

Die Untersuchung der Plastide bei der Sporo- und Spermatogenese beweist, daß sie sich in der teilenden Zelle ähnlich dem Centrosom verhält, wobei in der Meta- und in der Anaphase sich die »Spindelzugfasern« an die auf den Polen des sich teilenden Kernes liegenden Plastiden anheften, sie zwingend, sich entgegen den Chromosomen auszustülpen.

Diese Lage der Plastiden an den Kernpolen versorgt eine jede Tochterzelle mit einer Plastide und führt dazu, daß auch die junge Spore und der Spermatozoid ebenfalls je eine Plastide erhalten. In der Spore vermehrt sie sich, und bei dem Spermatozoid klebt sie an seinem hinteren Ende an und folgt ihm auch weiter nach, bei seinem Austreten aus dem Antheridium.

Dasselbe Verhalten der Plastiden bei der Spermatogenese und die Bilder, welche die Plastide an den fixierten und an den gefärbten Prä-

---

[1]) W. ARNOLDI: Materialien zur Morphologie d. Meeressiphoneen. Flora. CV. 1913.

[2]) Siehe auch J. SCHAXEL: Plasmastrukturen, Chondriosomen und Chromidien. Anatom. Anzeiger. XXXIX. 1911.

[3]) Z. B. A. GUILLIERMOND: Sur la participation du chondriosome des champignons dans l'élaboration des corpuscules métachromatiques. Ibid. XLIV. 1913. G. LEWITSKY, Ber. d. bot. Ges. XXXI. 9.

paraten aufweist, zwingen zu dem Gedanken, daß vieles, was in der entsprechenden Literatur unter dem Namen »Centrosom«, »Blepharoplast« usw. bekannt ist, nichts andres als dieselben Plastiden (und auch teilweise Chondriosomen) darstellt. Diese Fragen verlangen dringend eine neue Untersuchung.

Erklärung der Tafelfiguren.

Alle Abbildungen sind mit Hilfe des Abbeschen Apparates gezeichnet; Taf. XIII enthält Mikrophotogramme.

Tafel X.

Fixiertes und mit Hämatoxylin gefärbtes Material. Vergr.: Apochromat von Reichert 2 mm und Comp.-Oc. 12.

Fig. 1—7. *Elodea canadensis* Michx. Fixierung: 10%iges Formalin $^1/_3$ + 3% Kali bichromat $^2/_3$ einen Tag und nachher 3 Tage in 3%iges Kalibichromat.

Fig. 1. Zelle aus dem Urmeristem des Stengels; es sind zu sehen: der Kern mit einem Nucleolus und viele chondriosomenähnliche Gebilde verschiedener Form und ungleich intensiv gefärbt.

Fig. 2. Ebensolche Zelle mit mehreren schwarzen plastidenähnlichen Körpern; das ist am wahrscheinlichsten ein Resultat einer nicht ganz gelungenen Fixierung.

Fig. 3. Zelle aus dem Gewebe, das etwas tiefer als das Urmeristem liegt; zu sehen: der Kern mit dem Nucleolus, schwarze Plastiden und graue Chondriosomen.

Fig. 4. Zelle aus dem Meristem eines jungen Blattes; der Kern, schwarze Plastiden und graue Chondriosomen.

Fig. 5. Zelle aus einem Blatte mittleren Alters.

Fig. 6. Typen der Plastiden und der Chondriosomen aus einem älteren Blatte.

Fig. 7. Teil einer Zelle aus einem großen Blatte; zu sehen: große Plastiden und kleine Chondriosomen.

Fig. 8—13. *Asparagus officinalis* L. Fixierung in 10% Formalin, $2^1/_2$ Tage.

Fig. 8. Zelle aus dem Urmeristem des Stengels; Kern und chondriosomenähnliche Körper verschiedener Form und Farbintensität.

Fig. 9. Zelle aus dem benachbarten Gewebe; Kern, schwarze Plastiden und graue Chondriosomen.

Fig. 10. Zelle aus dem Stengel unweit vom Urmeristem.

Fig. 11. Zelle aus der Rinde des Stengels.

Fig. 12. Plastiden und Chondriosomen aus dem Stengel.

Fig. 13. Plastiden und Chondriosomen aus dem Blatte.

Tafel XI.

Fixiertes und mit Hämatoxylin gefärbtes Material. Vergr.: Ap. von Reichert 2 mm und Comp.-Oc. 12.

Fig. 1—4. *Euphorbia Myrsinites* L. Fixierung: »Regaud« $^1/_2$ + $H_2O\,^1/_2$ 2 Tage, nachher 2 Tage in 2%iges Kalibichromat.

Fig. 1. Zelle aus dem Urmeristem des Stengels; Kern und chondriosomenähnliche Gebilde verschiedener Form und ungleich intensiver Färbung.

Fig. 2. Zelle aus dem benachbarten Gewebe; Kern, schwarze Plastiden und graue Chondriosomen.

Fig. 3. Etwas tiefer liegende Zelle.

Fig. 4. Plastiden und Chondriosomen aus der Stengelrinde.

Fig. 5—8. *Trianea bogotensis* Karsten. Fixierung: 2%iges Kalibichromat $^1/_2$ + 10%iges Formalin $^1/_2$ 24 Stunden, nachher $1^1/_2$ Tage in 2%iges Kalibichromat.

Fig. 5. Zelle aus dem Urmeristem der Wurzel; Kern und chrondriosomenähnliche Gebilde.

Fig. 6. Zelle aus der benachbarten Rinde; Kern, schwarze Plastiden und graue Chondriosomen.

Fig. 7. Zelle aus der älteren Rinde.

Fig. 8. Zelle aus der erwachsenen Rinde; an dem großen schwarzen Kern liegen zwei rundliche Plastiden (davon eine mit drei Stärkekörnern) verhältnismäßig große Chondriosomen.

Fig. 9—19. *Oenothera biennis* L. Fixierung nach Regaud.

Fig. 9. Zelle aus dem Urmeristem des mit normaler Geschwindigkeit wachsenden Stengels; Kern, schwarze (und größere) Plastiden, graue (und kleinere) Chondriosomen.

Fig. 10. Analoge Zelle aus einem schnell wachsenden Stengel; Plastiden und Chondriosomen, voneinander nicht klar genug abgegrenzt.

Fig. 11. Analoge Zelle aus einem langsam wachsenden Stengel. Kern, große schwarze Plastiden und kleine graue Chondriosomen.

Fig. 12. Zelle aus dem Urmeristem eines Zweiges.

Fig. 13 u. 14. Zellen wie auf Fig. 11; einige Plastiden enthalten Stärkekörner.

Fig. 15. Zelle aus dem Urmeristem eines fast ganz erwachsenen Stengels.

Fig. 16. Zelle aus der Knospenanlage in der Blattachsel des Keimes.

Fig. 17. Zelle aus der Stengelrinde unweit vom Urmeristem.

Fig. 18. Etwas tiefer liegende Zelle.

Fig. 19. Zelle aus der Stengelrinde.

Tafel XII.

Fig. 20—24. *Oenothera biennis* (Fortsetzung).

Fig. 20. Teil der Zelle aus dem Mesophyll des jungen Blattes.

Fig. 21. Teilungsfiguren der Plastiden aus der Rinde.

Fig. 22. Plastiden (mit Stärkekörnern) und Chondriosomen aus dem Blattstiel des Keimes.

Fig. 23 u. 24. Zellen aus dem Blattstiel des Keimes.

Fig. 25 u. 26. *Plagiochasma Aitoni*. Vergr.: Ap. von Zeiß 2 mm × Oc. 4.

Fig. 25. Gonotokont in Synapsis; mit Chromessigsäure fixiert und mit Hämatoxylin gefärbt; Plastiden.

Fig. 26. Gonotokont in vivo; Öltröpfchen und Chloroplasten.

Fig. 27. *Lycopodium inundatum* L., mit »Flemming stark« fixiert und mit Hämatoxylin gefärbt.

Fig. 27*a*. Zelle aus dem Urmeristem des Stengels; um den großen Kern (mit drei Nucleolen) herum liegende Plastiden (teils mit dem Rand, teils mit der flachen Seite) und mehrere mitochondrienähnliche Öltropfen, durch Osmiumsäure geschwärzt.

Fig. 27*b*. Etwas tiefer liegende Zelle; die Mehrzahl der Plastiden liegt auf dem Rande.

Tafel XIII.

Beide Mikrophotogramme sind von Prof. Dr. K. Kruis mit Hilfe der Quarzoptikas (Ap. 2 mm) und der ultravioletten Strahlen nach lebendigen Präparaten gemacht. Expositionsdauer 15—20 Sek.

Mikr. 1. *Fissidens adianthoides* in vivo im eigenen Schleim, der mit Olivenöl umgeben ist. Gonotokonten in Synapsis. In *a* ist ein großer auf dem Knäuel liegender Nucleolus zu sehen. In *b* — vor kurzem abgestorbene Zelle. In *c* und *d* — Plastide in Teilung.

Mikr. 2. *Catharinea undulata* in vivo in schwacher Chlornatriumlösung. Gonotokonten in Synapsis. Plastiden sind wegen der Öltropfen nicht klar genug zu sehen. In *a* kann man einige Wege der sich bewegenden Öltropfen (in der Form von Linien) bemerken.

Tafel XIV.

Catharinea undulata. Lebendiges Material. Vergr.: Ap. von Zeiß 2 mm × Oc. 4.

Fig. 1. Zelle aus dem sich in das Archesporium umwandelnden Gewebe; Kern und fünf Chloroplasten mit Stärkekörnern.

Fig. 2. Analoge Zelle; zwei paarige und ein unpaariger Chloroplast.

Fig. 3. Analoge Zelle; vier Chloroplasten zu je zwei an den beiden Kernpolen stehend.

Fig. 4. Analoge Zelle mit drei Chloroplasten.

Fig. 4*a*. Ähnliche Zelle mit zwei Chloroplasten.

Fig. 5. Zwei Paare (eins oben und eins unten) von Schwesterzellen.

Fig. 6. Zelle mit drei Chloroplasten; davon zwei an einem und einer am andern Kernpol.

Fig. 7. Zelle mit zwei Chloroplasten, welche gegeneinander an den Kernpolen stehen.

Fig. 8. Zwei Schwesterzellen.

Fig. 9. Zelle des sehr jungen Archespors; der Chloroplast verbreitert und verlängert sich.

Fig. 10—13. Weitere Stadien der Teilung des Chloroplasten.

Fig. 14. Zelle aus dem jungen Archespor; zwei Chloroplasten an den Kernpolen stehend.

Fig. 15. Archesporzelle mittleren Alters; links am Kern ist ein Chloroplast im Querschnitt.

Fig. 16. Analoge Zelle; Chloroplast in der Teilung.

Fig. 17. Ähnliche Zelle; junge Chloroplasten gehen nach den Kernpolen.

Fig. 17*a*. Große Zelle aus dem Archespor mittleren Alters; junge Chloroplasten (im Querschnitt) gehen nach den Kernpolen.

Fig. 18. Analoge Zelle; Chloroplasten an den Kernpolen stehend.

Fig. 19. Ähnliche Zelle; die an den Kernpolen stehenden Chloroplasten beginnen ihre neue Teilung.

Tafel XV.

Fortsetzung der Taf. XIV. *Catharinea undulata* in vivo. Vergr. der Fig. 30*a*: Ap. von Zeiß 2 mm × Comp.-Oc. 12; alle übrigen: ders. Ap. × Oc. 4.

Fig. 20. Große Zelle aus dem erwachsenen Archespor in der Telophase; Chloroplasten im Querschnitt.

Fig. 21. Zwei Schwesterzellen, die von einer (wie in Fig. 20) großen Zelle stammen.

Fig. 22. Gonotokont vor der Synapsis; der Kern ist körnig, im Plasma sieht man Öltropfen (und Chondriosomen?); Plastide beginnt ihre erste Teilung.

Fig. 23. Gonotokont in der Synapsis; Kern liegt exzentrisch.

Fig. 24. Analoge Zelle; die noch zukünftigen Plastiden dehnen sich schon in die Länge, die zweite Teilung beginnend.

Fig. 25 u. 26. Analoge Zelle; Plastide im Querschnitt.

Fig. 27. Analoge Zelle; Kernfadenpaare, wie es scheint, dicht aneinander liegend.

Fig. 28. Analoge Zelle; Plastiden gehen voneinander und führen die zweite Teilung fort.

Fig. 29. Analoge Zelle; die zweite Plastidenteilung ist fast beendet.

Fig. 30. Gonotokont mit vier Plastiden; Kernfäden erfüllen den ganzen Kernraum. In Fig. 30*a* sind die Kernfäden bei stärkerer Vergrößerung gegeben.

Fig. 31. Diakinesis (?); Plastiden in tetraedrischer Anordnung.

Fig. 32. Metaphase; Chromosomenplatte von oben, drei (von 4) Plastiden.

Fig. 33. Ähnliche Zelle; Chromosomenplatte von der Seite; das Plasma um den Chromosomen ist von Öltropfen entleert.

Tafel XVI.

Vergr.: Ap. von Zeiß 2 mm × Oc. 4.

Fig. 34—46. *Catharinea undulata* in vivo und Fig. 14*a* mit Chrom-Osmium-Essigsäure nach Prof. B. Němec (1% Chroms. 100 ccm + 0,5% Osmiums. 4 ccm + Essigs. 0,6 ccm) fixiert und mit Hämatoxylin gefärbt.

Fig. 34. Gonotokont am Anfang der Anaphase. Im oberen Teil der Kernspindel hat das graphische Institut einige schwache horizontale Linien fehlerhaft eingetragen, welche dort nicht sein sollen.

Fig. 35. Interkinesis; Kernmasse zwischen zwei Plastiden.

Fig. 36. Zwei junge Kerne mit dem Phragmoplasten.

Fig. 37. Tetrasporenbildung; Plastiden im Querschnitt.

Fig. 38. Junge Tetrasporen noch im Zusammenhang.

Fig. 39. Junge Tetrasporen voneinander abgetrennt; Kerne sind nicht bemerkbar.

Fig. 40. Dasselbe, doch es sind auch die Kerne zu sehen.

Fig. 41. Reifende Spore mit einer Plastide.

Fig. 42. Spore mit sich teilender Plastide.

Fig. 43. Die Plastide ist geteilt.

Fig. 44. Spore mit zwei Plastiden; davon eine in Teilung.

Fig. 45. Spore mit drei Plastiden.

Fig. 46. Spore mit zwei sich teilenden Plastiden.

Fig. 14*a*. Archesporzelle; an den Kernpolen je eine Plastide.

Fig. 1—5. *Fissidens adianthoides* (T.) Hedw. in vivo.

Fig. 1. Zelle aus dem Gewebe, das sich in das Archespor umwandelt; an den Kernpolen stehen je zwei Chloroplasten (mit Stärkekörnern).

Fig. 2. Analoge Zelle mit zwei Chloroplasten.

Fig. 3. Zelle aus dem jungen Archespor.

Fig. 3*a*. Zwei Chloroplasten aus dem benachbarten Gewebe.

Fig. 4. Junge Archesporzelle; Chloroplast beginnt seine Teilung.

Fig. 5. Ähnliche Zelle; Chloroplast in der Teilung.

Tafel XVII.

Fissidens adianthoides in vivo (Fortsetzung).

Fig. 6. Zelle aus dem jungen Archesporium; rechts am Kerne zwei junge Chloroplasten.

Fig. 7. Analoge Zelle; Chloroplast beginnt seine Teilung.

Fig. 8. Chloroplast nach der Teilung.

Fig. 9. Junge Chloroplasten gehen nach den Kernpolen.

Fig. 10. Chloroplasten an den Kernpolen.

Fig. 11. Zwei Schwesterzellen.

Fig. 12. Zelle aus dem alten Archesporium; Plastide (im Querschnitt) in der Teilung.

Fig. 13. Zwei Schwesterzellen aus dem alten Archesporium.

Fig. 14. »Pseudotetrade« aus dem alten Archespor.

Fig. 15. Gonotokont in der Synapsis; Plastide führt ihre erste Teilung; im Plasma Öltropfen (und Chondriosomen?).

Fig. 16. Analoge Zelle; der synaptische Knäuel ist dichter geworden.

Fig. 17. Dispiremstadium; zwei Plastiden gegeneinander gestellt.

Fig. 18. Diakinesis; vier Plastiden.

Tafel XVIII.

Vergr.: Ap. von Zeiß 2 mm × Oc. 4.

Fig. 19—25. *Fissidens adianthoides* in vivo (Fortsetzung).

Fig. 19. Gonotokont in der Metaphase.

Fig. 20. Anaphase.

Fig. 21. Analoge Zellen; Plasma etwas kontrahiert; an den Stellen, wo die Zugfasern an die Plasmahaut angeheftet sind, sind Einstülpungen und Klumpen eines ölartigen Stoffes bemerkbar.

Fig. 22. Zweite Teilung des Gonotokontenkernes; Zugfasern sind an die Plastiden geheftet; an den entsprechenden Stellen sieht man Ausstülpungen in der Richtung nach der Chromosomenplatte.

Fig. 23. Tetrasporenbildung; Phragmoplast mit der werdenden Zellwand; an den Kernen je eine Plastide.

Fig. 24. Fertige Tetrasporen noch im Verbande.

Fig. 25. Junge Sporen liegen frei in der Mutterzelle.

Fig. 1—10. *Funaria hygrometrica* (L.) Sibth. in vivo.

Fig. 1. Zwei Schwesterzellen aus dem alten Archesporium.

Fig. 2. Sporenmutterzelle vor der Synapsis; Plastide, mit Öltropfen bedeckt, führt ihre erste Teilung.

Fig. 3. Gonotokont in der Synapsis; zwei Plastiden mit Klumpen von Öltropfen an ihren Enden.

Fig. 4 u. 5. Plastiden führen ihre zweite Teilung.

Fig. 6. Anaphase; Plastiden in tetraedrischer Anordnung mit Öltropfen bedeckt.

Fig. 7. Junge Tetrasporen; Kerne sind nicht zu sehen.

Fig. 8. Junge freie Spore.

Fig. 9. Reifende Spore; Plastide ist noch ziemlich groß.

Fig. 10. Fast reife Spore; Chloroplasten und Öl.

Tafel XIX.

Physcomitrium piriforme (L.) Brid. in Chromessigsäure (0,5 g + 1 ccm + 100 ccm H_2O) fixiert und mit Hämatoxylin gefärbt. Vergr.: Ap. von Zeiß 2 mm × Oc. 4.

Fig. 1—3. Zellen aus dem Gewebe, das sich in das Archesporium umwandelt; zahlreiche Plastiden an den Polen der Kernteilungsfigur.

Fig. 4. Analoge Zelle mit dem Phragmoplasten.

Fig. 5. Analoge Zelle mit nur vier Plastiden.

Fig. 6. Analoge Zelle mit nur zwei Plastiden.

Fig. 7. Analoge Zelle mit nur einer Plastide.

Fig. 8 u. 9. Zellen aus dem jungen Archesporium; Plastide (im Querschnitt) in der Teilung.

Fig. 10. Zwei Schwesterzellen aus dem jungen Archesporium.

Fig. 11. Zelle aus dem jungen Archesporium; Plastide mit der flachen Seite liegend.

Fig. 12. Große Zelle aus dem jungen Archesporium.

Fig. 13 u. 14. Große Zellen aus dem Archesporium mittleren Alters; der Kern liegt unter der Plastide, die mit fadenartigen Gebilden durchzogen ist.

Fig. 15—17. Archesporzellen mit durch den Fixator verunstalteten Kernen.

Fig. 18. Archesporzelle; Plastide in der Teilung. .

Fig. 19. Ähnliche Zelle; Plastide gleich nach der Teilung.

Tafel XX.

Vergr.: Ap. von Zeiß 2 mm × Oc. 4.

Fig. 20—27. *Physcomitrium piriforme* (Fortsetzung).

Fig. 20. Archesporzelle; junge Plastiden gehen nach den Kernpolen.

Fig. 21 u. 22. Analoge Zelle in der Anaphase; Zugfasern sind an die Plastiden angeheftet.

Fig. 23. Telophase; zwischen den Kernen und Plastiden ist das Plasma grobmaschig fixiert.

Fig. 24. Phragmoplast bildet die Querwand; Plastiden im Querschnitt.

Fig. 25. Die Querwand ist fast fertig.

Fig. 26. Zwei Schwesterzellen.

Fig. 27. »Pseudotetrade«.

Fig. 1—4. *Amblystegium serpens* (L.) Br. eur. in »Juel« (Chlorzink 2 g + Essigs. 2 ccm + 50%igen Alkohol 100 ccm) während 10 Stunden fixiert und mit Hämatoxylin gefärbt.

Fig. 1. Zelle aus dem Archespor mittleren Alters; an den Kernpolen je eine Plastide (im Querschnitt).

Fig. 2. »Pseudotetrade«.

Fig. 3 u. 4. Gonotokont in der Synapsis; Plastide im Querschnitt.

Fig. 5—9. *Hypnum molluscum* Hedw. in vivo.

Fig. 5. Zelle aus dem Gewebe, das sich in das Archesporium umwandelt; an den Kernpolen je zwei Chloroplasten.

Fig. 6. Analoge Zelle mit fünf Chloroplasten.

Fig. 7. Analoge Zelle mit drei Chloroplasten.

Fig. 8. Zwei Schwesterzellen.

Fig. 9. Zwei Schwesterzellen aus dem jungen Archespor.

Fig. 10 u. 11. *Dicranodontium* sp. in vivo.

Fig. 10. Zelle aus dem Archespor mittleren Alters; Chloroplast in der Teilung.

Fig. 11. Zwei Schwesterzellen aus dem Archespor mittleren Alters; links — Chloroplast gleich nach der Teilung.

Tafel XXI.

Alle Präparate sind mit Hämatoxylin gefärbt.

Fig. 1—8. *Lycopodium inundatum* L. Mit »Flemming stark« fixiert. Vergr.: Ap. von Reichert 2 mm × Comp.-Oc. 6.

Fig. 1. Zelle aus dem alten Archesporium; Plastide (im Querschnitt) in der Teilung.

Fig. 2. Analoge Zelle; junge Plastiden an den Kernpolen.

Fig. 3. Zwei Schwesterzellen aus dem alten Archesporium; Plastiden im Querschnitt.

Fig. 4 u. 5. Gonotokont in der Synapsis; im Plasma schwarze Öltropfen (Osmiumsäure!).

Fig. 6. Gonotokont in der späten Synapsis; Plastide in der Teilung.

Fig. 7. Dispiremstadium; zwei junge Plastiden stehen gegeneinander.

Fig. 8. Tetraspore; am Kern eine Plastide.

Fig. 9—15. *Selaginella emmeliana* Van Geert. Mit dem von Prof. B. Němec modifizierten »Flemming« (s. S. 437) fixiert. Vergr.: Ap. von Reichert 2 mm × Comp.-Oc. 6.

Fig. 9. Stengelspitze; in der Scheitelzelle und ihren Nachbarinnen je eine bzw. zwei Plastiden.

Fig. 10. Zelle aus dem jungen Archespor; Plastide in der Teilung.

Fig. 11. Ähnliche Zelle; junge Plastiden an den Kernpolen.

Fig. 12. Sporenmutterzelle vor der Synapsis; am Kern eine Plastide.

Fig. 13. Gonotokont in der Synapsis; in Fig. 13*a* ist die Plastide mit flacher Seite zu sehen.

Fig. 14 u. 15. Synapsis; Plastide führt ihre erste Teilung.

Tafel XXII.

Alle Präparate sind mit Hämatoxylin gefärbt.

Fig. 16—18. *Selaginella emmeliana* (Fortsetzung).

Fig. 16. Tetraspore; am Kerne eine Plastide. Vergr.: Ap. von Reichert 2 mm × Comp.-Oc. 6.

Fig. 17. Mikrospore; am Kern eine Plastide. Vergr.: Ap. von Zeiß 2 mm × Oc. 4.

Fig. 18. Teil der Makrospore; am Kern eine (etwas zusammengezogene) Plastide. Vergr.: Ap. von Zeiß 2 mm × Oc. 2.

Fig. 1—5. *Funaria hygrometrica* (L.) Sibth. Mit »Regaud« fixiert. Vergr.: Ap. von Reichert 2 mm × Comp.-Oc. 12.

Fig. 1. Teil der Zelle aus dem Parenchym des Sporogons.

Fig. 2. Zelle aus dem jungen Archesporium; eine Plastide enthält ein Stärkekorn.

Fig. 3. Sporenmutterzelle vor der Synapsis; Plastide im Querschnitt.

Fig. 4. Gonotokont in der Synapsis.

Fig. 5. Drei Tetrasporen.

Fig. 6—9. *Polytrichum piliferum* Schreb. Fixator und Vergrößerung, wie in Fig 1—5.

Fig. 6. Scheitelzelle des antheridientragenden Stengels.

Fig. 7. Scheitelzelle des wachsenden Stengels (schief geschnitten); Plastiden teilweise in der Teilung.

Fig. 8. Zelle aus dem sehr jungen Blatte.

Fig. 9. Chondriosomen aus dem Perichetium und dem Stengel.

Tafel XXIII.

Alle Präparate sind mit Hämatoxylin gefärbt.

Fig. 1. Protonema von *Funaria hygrometrica*, mit »Regaud« fixiert. Vergr.: Ap. von Reichert 4 mm × Comp.-Oc. 12.

Fig. 2—6. *Funaria hygrometrica*, mit »Regaud« fixiert. Vergr.: Ap. von Reichert 2 mm × Comp.-Oc. 12.

Fig. 2. Scheitelzelle des sehr jungen Stengels (schief geschnitten).

Fig. 3. Scheitelzelle des erwachsenen Stengels.

Fig. 4. Zelle der Blattanlage.

Fig. 5. Zelle des jungen Blattes.

Fig. 6. Chondriosomen und Plastiden aus dem erwachsenen Blatte.

Fig. 7. *Physcomitrium piriforme* (L.) Bried. Archesporzelle. Fixiert mit Chromessigs. Links am Kern sind Reste der Plastide zu sehen. Vergr.: Ap. von Reichert 2 mm × Comp.-Oc. 12.

Fig. 8 u. 9. *Funaria hygrometrica*, fixiert mit »Regaud«. Vergr.: wie Fig. 7.

Fig. 8. Anlage des genitalen Trichoms; einige Plastiden im Querschnitt.

Fig. 9. Genitales Trichom; einige Plastiden im Querschnitt.

Tafel XXIV.

Funaria hygrometrica. Fixiert: mit »Flemming stark«, außer Fig. 22 u. 23, welche nach mit »Regaud« fixierten Präparaten gezeichnet sind. Gefärbt: mit Hämatoxylin. Vergr.: Ap. von Reichert 2 mm × Comp.-Oc. 12.

Fig. 1. Scheitel des genitalen Trichoms, das sich in das Antheridium umwandelt.

Fig. 2. Drei mittlere Zellen aus dem werdenden spermatogenen Gewebe.

Fig. 3. Zelle aus dem jungen spermatogenen Gewebe; Plastide (im Querschnitt) in der Teilung.

Fig. 4. Analoge Zelle; an den Kernpolen je eine Plastide.

Fig. 5. Zelle aus dem spermatogenen Gewebe mittleren Alters.

Fig. 6. Ähnliche Zelle; Plastide im Querschnitt.

Fig. 7. Zelle aus dem alten spermatogenen Gewebe; Plastide (im Querschnitt) in der Teilung.

Fig. 8. Ähnliche Zelle; Plastide unter dem Kern liegend.

Fig. 9. Analoge Zelle; Plastiden an den Kernpolen.

Fig. 10. Zelle aus dem spermatogenen Gewebe in der Anaphase (schief geschnitten); oben Plastide mit Ausstülpungen, an welche Zugfasern geheftet sind.

Fig. 11. Analoge Zelle in der Telophase; Plastiden im Querschnitt.

Fig. 12 (*a*—*e*). Verschiedene Stadien der Verkleinerung der Plastide während der Vermehrung der spermatogenen Zellen; in 12*e* ist die Plastide schon kugelförmig.

Fig. 13. Zelle aus dem alten spermatogenen Gewebe; am Kern eine Plastide in der Teilung.

Fig. 14. Zelle aus dem alten spermatogenen Gewebe in der Anaphase (schief geschnitten); oben — eine kugelförmige Plastide mit grobfibrillär fixiertem Plasma umgeben.

Fig. 15. Junge Spermatide; um die Plastide ist die grobfibrilläre Struktur des Plasmas noch bemerkbar.

Fig. 16. Junge Spermatide; Plastide dicht am Kerne liegend.

Fig. 17. Analoges Bild, doch der Kern schon ohne Nucleolus.

Fig. 18—28. Umwandlung der Spermatide in das Spermatozoon.

Fig. 18 u. 19. Der Kern wird halbmondförmig; Plastide an seiner Seite.

Fig. 20—23. Weitere Stadien; am vorderen Ende des Kernes der dünne Blepharoplast.

Fig. 24. Der Kern sieht schon als ein dicker Faden aus; Plastide an der Mitte der Zelle.

Fig. 25. Plastide dem Kern angeschmiegt.

Fig. 26. Plastide geht nach dem hinteren Ende des Kernes.

Fig. 27. Das Spermatozoon mit kugelförmiger Plastide.

Fig. 28. Dasselbe mit ei- oder birnförmiger Plastide.

Tafel XXV.

Alle Präparate sind mit »Regaud« fixiert und mit Hämatoxylin gefärbt. Vergr.: Ap. von Reichert 2 mm × Comp.-Oc. 12.

Fig. 29—37. *Funaria hygrometrica.*

Fig. 29. Zelle aus dem Gewebe, das sich in das spermatogene umwandelt; eine (von drei) Plastide liegt über dem Kern; im Plasma sind Chondriosomen zu sehen.

Fig. 30. Zelle aus dem jungen spermatogenen Gewebe; Plastide (im Querschnitt) in der Teilung.

Fig. 31. Zelle aus dem spermatogenen Gewebe mittleren Alters; an den Kernpolen je eine Plastide.

Fig. 32. Zelle aus dem alten spermatogenen Gewebe; Plastide im Querschnitt.

Fig. 33. Mutterzelle der Spermatide; Plastide teilt sich; im Plasma liegt ein Mitochondrium.

Fig. 34. Ähnliche Zelle; zwei junge Plastiden (gleich nach der Teilung).

Fig. 35. Ähnliche Zelle; junge Plastiden gehen nach den Kernpolen.

Fig. 36 u. 37. Spermatide.

Fig. 1—23. *Polytrichum piliferum* Schreb.

Fig. 1. Kern mit zwei Plastiden und zahlreichen Chondriosomen, aus dem jungen spermatogenen Gewebe.

Fig. 2 u. 3. Aus dem jungen spermatogenen Gewebe.

Fig. 4. Kern mit einer Plastide und Chondriosomen aus dem spermatogenen Gewebe mittleren Alters.

Fig. 5. Kern mit einer Plastide und Chondriosomen aus dem alten spermatogenen Gewebe.

Fig. 6. Junge Spermatide.

Fig. 7. Aus dem jungen spermatogenen Gewebe; Plastide in der Teilung.

Fig. 8. Dasselbe aus dem spermatogenen Gewebe mittleren Alters.

Fig. 9. Dasselbe aus dem alten spermatogenen Gewebe.

Fig. 10. Zelle aus dem alten spermatogenen Gewebe; junge Plastiden gehen voneinander.

Fig. 11. Plastiden an den Kernpolen.

Fig. 12. Spermatide.

Fig. 13—23. Bildung des Spermatozoids.

Fig. 13. Spermatide mit dem Blepharoplast, einer Plastide und zwei Mitochondrien.

Fig. 14—19. Weitere Stadien der Bildung des Spermatozoids.

Fig. 20. Der Kern ist fadenförmig geworden; Plastide mit einem Mitochondrium steht in der Mitte der Zelle.

Fig. 21. Plastide liegt dicht am Kern.

Fig. 22 u. 23. Fertiges Spermatozoid mit einer Plastide (und einem Mitochondrium) an seinem hinteren Ende.

Fig. 41—50. *Bryum* sp.

Fig. 41. Aus dem werdenden spermatogenen Gewebe; Kern, vier Plastiden und einige Chondriosomen.

Fig. 42. Zelle aus dem spermatogenen Gewebe mittleren Alters; Plastide (im Querschnitt) teilt sich.

Fig. 43 u. 44. Aus dem jungen spermatogenen Gewebe.

Fig. 45. Spermatide.

Fig. 46. Plastide liegt dicht am fadenförmigen Kerne. In Fig. 46*a* ist nur ein Teil des Kernes wiedergegeben.

Fig. 47. Plastide am hinteren Ende des Kernes.

Fig. 48. Zelle aus dem spermatogenen Gewebe mittleren Alters; Plastide und Chondriosomen.

Fig. 49. Sich teilende Plastide aus der ähnlichen Zelle.

Fig. 50. Analoge Zelle; an der Stelle der Plastide ist etwas Chondriomitenähnliches zu sehen.

Tafel XXVI.

Alle Präparate sind mit Hämatoxylin gefärbt. Vergr.: Ap. von Reichert 2 mm × Comp.-Oc. 12, außer Fig. 24, wo — Ap. Reichert 4 mm × Comp.-Oc. 12.

Fig. 1—18. *Marchantia polymorpha* L., mit 3%igem Kalibichromat fixiert.

Fig. 1. Aus dem Gewebe, das sich in das spermatogene umwandelt; Kern und vier Plastiden.

Fig. 2. Dasselbe mit drei Plastiden.

Fig. 3. Dasselbe mit zwei Plastiden.

Fig. 4. Zelle aus dem jungen spermatogenen Gewebe; an den Kernpolen je eine Plastide.

Fig. 5. Ähnliche Zelle; Plastiden vergrößern sich.

Fig. 6. Zelle aus dem spermatogenen Gewebe mittleren Alters; Plastiden im Querschnitt.

Fig. 7. Sich teilende Plastiden (aus dem spermatogenen Gewebe mittleren Alters); in der rechten Plastide ein Stärkekorn.

Fig. 8. Zelle aus dem alten spermatogenen Gewebe; Plastide teilt sich.

Fig. 9. Analoge Zelle; junge Plastiden gehen nach den Kernpolen.

Fig. 10. Analoge Zelle; Plastiden stehen an den Kernpolen.

Fig. 11. Mutterzelle der Spermatide mit einer Plastide.

Fig. 12—14. Chondriokontenförmige Figuren der sich teilenden Plastide (aus dem alten spermatogenen Gewebe).

Fig. 15. Ähnliche Plastide, doch mit Stärke.

Fig. 16. Zwei junge Plastiden, welche den Chondriokonten ähnlich sind.

Fig. 17. Das werdende Spermatozoid mit einer Plastide in der Mitte der Zelle.

Fig. 18. Dasselbe, doch liegt die Plastide dicht am Kern.

Fig. 19—22. *Funaria hygrometrica*, mit »Regaud« fixiert.

Fig. 19. Zelle aus der Wand des jungen *Archegonium.*

Fig. 20. Plastiden und Chondriosomen aus der oberen Zelle der mittleren Zellreihe des Archegoniums.

Fig. 21. Großmutterzelle des Eies.

Fig. 22. Junge Eizelle.

Fig. 23. Reife Eizelle von *Bryum* sp., mit »Regaud« fixiert.

Fig. 24. Scheitelzelle des jungen Embryos von *Funaria hygrometrica*, mit »Regaud« fixiert.

Fig. 25. Archesporzelle von *Physcomitrium piriforme*, mit Chromessigs. fixiert. Telophase. An der Stelle der Plastide sieht man dunkle Flecken und Fäden.

Ps. Die neuen Arbeiten von GUILLIERMOND [1]) über die Individualität der Plastide werde ich an einer andern Stelle berühren, weil sie erst nach der Absendung des Manuskriptes dieser Arbeit veröffentlicht sind und faktisch nichts neues geben.

---

[1]) Ber. d. d. bot. Ges. 1194.

A Cytological Study of the Semi-parasitic Copepod, Hersilia apodiformis (Phil.), with Some General Considerations of Copepod Chromosomes.

By

Sidney I. Kornhauser.

From the Zoölogical Institute, Würzburg.

With 9 Textfigures and Plates XXVII—XXIX.

Synopsis.

I. Introduction.

The following study deals in the main with the spermatogenesis[1]) of *Hersilia apodiformis* (Phil.), and lays special emphasis upon the method of syndesis and the presence of a "Querkerbe"[2]) in the chromosomes. Various phenomena in the oögenesis and cleavage cells will be described also to supplement the observations on the spermatogenesis; and a pair of lagging chromosomes, whose behavior resembles that of the paired "sex-chromosomes" of the Nematodes and Insects, will be considered under the spermatocyte divisions.

At this point I would like to express my gratitude to Professor V. Haecker for the courtesies extended to me during my stay at his laboratory, to the Direction of the Zoölogical Station at Naples for the procurrence of a large amount of material, and to Professor Theodor Boveri for his many valuable suggestions in the study of *Hersilia* and for the opportunity of working in his institute. Also to Privatdocent Dr. B. Zarnik am I indebted for helpful criticisms which aided in the preparation of this work.

II. Review of Previous Literature.

During the past twenty years numerous papers have appeared dealing with the maturation phenomena in the oögenesis of the Copepoda. The principal efforts of the earlier investigators (Ishikawa '91; Rückert '94a, '94b; Haecker '95a, '95b; vom Rath '95) were made to test the reality of the postulations of Weismann and the main questions were: (1) Is there a reduction of the normal (somatic) chromosomal number in the maturation divisions? (2) Is the first or second maturation division that which separates the chromosomes into qualitatively different groups (reduction division), or are both divisions reductional?

That the Copepods, in spite of the clearness of the chromosomes in the maturation spindles, were not the most favorable group for a simple solution of these problems is due: (1) to the difficulty in obtaining good oögonial or spermatogonial metaphase plates for counting the chromo-

[1]) The scarcity of literature on the spermatogenesis of Copepods is doubtless due to the fact that the material is very difficult to fix without considerable shrinkage. For a further consideration of this point see footnote, page 8.

[2]) "Querkerbe" — a term first used by Haecker ('95b) to denote a light staining transverse streak, appearing in the chromosomes of the maturation divisions of *Cyclops brevicornis*.

somes; and (2) to the presence of a "Querkerbe", or light transverse streak marking each component of the bivalent chromosomes into two parts. This "Querkerbe" was used as the most important evidence for a pseudo-reduction of the chromosomes: it marking the point at which two oögonial chromosomes remained in contact during the formation of the oöcyte. The whole question of syndesis was very simple. The chromosomes of the ultimate oögonial division formed a spireme which segmented into half the normal number of chromatin bands, which bands later showed their doubleness by a light transverse streak across the middle. These double bands exhibited also a longitudinal division, making thus four parts. Along this longitudinal division the chromosomes separated in the first division, whereas the second division was at right angles to the first, and separated the chromosomes which had been bound together by the linin bridge (RÜCKERT '94a, '94b; HAECKER '95a; VOM RATH '95).

Then HAECKER ('95b) discovered the presence of a second "longitudinal division" of thle double bands, which made the chromosomes of the first maturation division octads or di-tetrads. Both maturation divisions were shown to be longitudinal, and later works (BRAUN '09; MATSCHECK '10) have brought forth good evidence that the di-tetrads do not divide at the "Querkerbe" in either division. These authors are all supporters of an end-to-end conjugation of the chromosomes. HAECKER ('11) states his view in the following sentence (p. 328): "Die Querkerben, wie sie bei so vielen Objekten in den Prophasen der ersten Teilung wahrzunehmen sind, sprechen andererseits mit Entschiedenheit für eine Metasyndese." If the "Querkerbe" is to be used as an argument against parasyndesis, then a careful study must be made to show how this structure arises: whether (1) by a coupling of the (normal number) chromosomes in the oögonia or spermatogonia, (2) by an incomplete segmentation of the spireme (if such is ever formed) of the last oögonial or spermatogonial generation, or (3) by an end-to-end union of the chromosomes in the growth period of the oöcytes or spermatocytes.

If, on the contrary, we find that the "Querkerbe" is a constant structure in the unreduced chromosomes of the somatic and germ cells of animals belonging to widely separated groups (Copepods, KRIMMEL '10; Nematodes, MARCUS '06; Molluscs, ZARNIK '11; Vertebrates, AGAR '11), that the chromosomes never enter into a spireme, and that they pass through those stages in the growth period which are so characteristic of a side-by-side union, then the "Querkerbe" can no longer be used as a positive proof for a metasyndesis.

III. Material and Methods.

A. Material.

The material was gathered at Naples, from April to August inclusive, 1913. *Hersilia apodiformis* (Phil.) is a small semi-parasitic Copepod, found crawling in the gill chambers and over the abdomen of *Callianassa subterranea* (Leach.). It is a flat, "Apus-like" form (Figs. *A—B*), obtained usually in pairs, the males being attached either to much larger mature females or to immature females[1]) (Fig. *C*), which are often smaller than the males themselves. The males hold tightly, their posterior maxillary appendages being highly modified into clasping organs which fit perfectly into lateral recesses in the fourth abdominal segment of the females. The antennae and first swimming legs also aid in clinging fast. *Hersilia* is evidently a case in which the males are becoming entirely dependent upon the females for locomotion and nutriment. This is supported by the facts that the swimming legs of the male are much less developed than those of the immature female of a size equivalent to that of the male, and that the abdomen of the female is so constructed that the faeces pass directly to the mouth-parts of the attached male. As shown in Figure C, there is a dorsal longitudinal groove in the abdomen of the female, posterior to the termination of the intestine; and over this groove are situated the mouth-parts of the male, when attached. In the adult female, this groove is deeper and more complicated; for here it serves also as the passage way of the spermatozoa into the receptaculum seminis, which lies dorsal to the intestine. It is an interesting fact that the male, when attached to a mature female, always possesses the same coloring pigment (yellow, orange, or red). This pigment variation is probably dependent upon the food. A microscopical comparison ob the material found in the digestive tracts of paired individuals showed that the food of the male was always in a much finer state of mastication than that of the female.

B. Methods.

Although *Hersilia* is by no means abundant, in five months I was able to get about six thousand pairs. They were dislodged from their hosts by squirting them with a strong pipette into a dish of sea water. Before fixing, it was found best to rinse them quickly in distilled water;

---

[1]) Immature females of four stages were found with attached males. The specimen shown in Fig. C is from the second of the four stages found on *Callianassa*, there being still two stages to be passed through before the adult form is reached.

otherwise, the salts of the sea water formed precipitations on the chitin, which interfered with a rapid penetration of the fixative. FLEMMING's fluid (strong) and CARNOY (chloroform, alcohol, glacial acetic acid without sublimate) were the only fluids which gave satisfactory results. The former was allowed to act from ten to twenty minutes, the latter only three to five minutes. The smallness and flatness of *Hersilia* and the thinness of the intersegmental membranes permits a rapid penetration[1]) of the fixing fluid. Those fixed in FLEMMING's fluid were washed in running or often distilled water for ten or twelve hours. To facilitate handling, when males alone were imbedded, they were first enclosed, in lots of fifty or more, in *Cryptobranchus* epidermis. Chloroform was used as the medium previous to embedding, and the animals were allowed to remain in the thermostat only twenty minutes, and during that time changed to fresh paraffin two or three times. All sections were cut 5 micra in thickness. The egg sacks were embedded in celloidin paraffin (APÁTHY '13) and also cut 5 micra.

The principal stains used were HEIDENHAIN's haematoxylin and crystal-violet-alizarin, the latter being employed only on FLEMMING material. Borax carmine and DELAFIELD's hämatoxylin and safranin were used also at times for a study of the cleavage chromosomes.

IV. Structure of Testes and Ovaries.

A. Testes.

The testes are paired organs (*te.* Figs. *A—B*), lying dorsal and medium in the thorax. There is an unpaired "Keimpolster"[2]) (Plate IV,

---

[1]) Non-penetration of fixing fluids can not entirely account for poor fixation in the testes and ovaries (growth period) of many Copepods. After working for four months on various fresh water Cyclopidae, using fixatives of all possible combinations or warm fluids, cutting or piercing the animals before fixation, I was unable to secure good preservation of spermatocytes or young oöcytes. *Diaptomus coeruleus*, without cutting or piercing the animals, allows of good fixation in HERMANN's fluid; but the long duration of the "confused stage" (WILSON, '13) makes it undesirable for a study of syndesis.

At Naples, many Calanids, including *Anomalocera*, *Euchaeta*, *Eucalanus* and *Calanus*, were either slit open in the fixing fluids, or had the anterior and posterior ends cut off in the fixing fluid with a fine scissors; but all in both sexes showed the chromatin tightly knotted in the early growth period. Of the Ascidicolae *Notopterophorus*, *Notodelphys* and *Lichomolgus* fixed well in FLEMMING, as did the male of *Sapphirina*; but in all these forms, the smallness of the germ cells and the minuteness of the chromosomes make them less favorable than *Hersilia* for a study of syndesis.

[2]) The "Keimpolster" itself is separated from the testis proper by a membrane, and even in young individuals the cells of the "Keimpolster" have almost no stainable

Fig. 1 *kp.*), composed of cells of large clear nuclei, usually with one or two deeply staining nucleoli, and cytoplasm of a clear homogeneous character, which stains black in haematoyxlin, after fixation in FLEMMING's

---

chromatin, and mitoses or preparation for division could not be found. It is most probable that these cells, judging from their nuclei and the stainability of their cytoplasm,

Textfigures A—B.

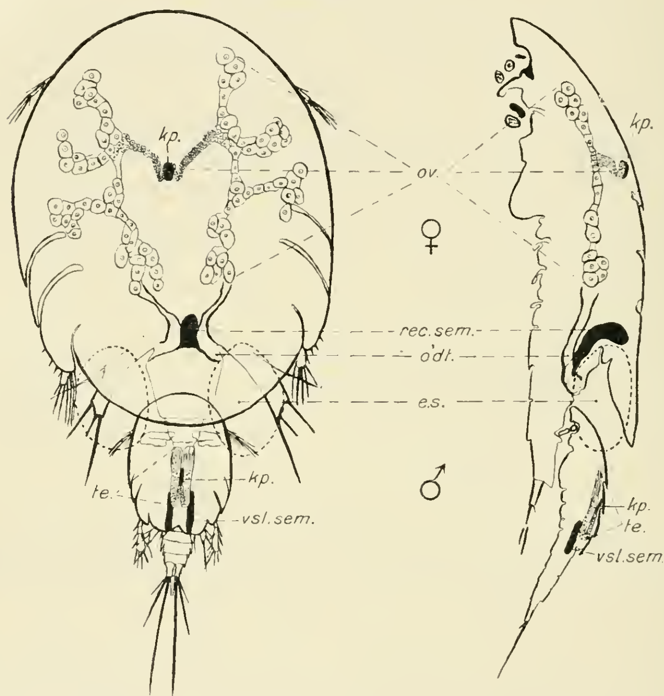


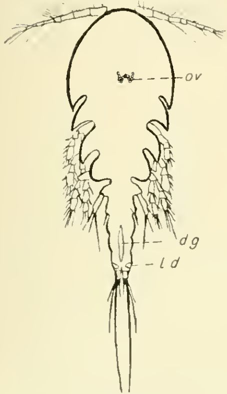
Fig. A. Hersilia apodiformis. Dorsal view of adult ♀ with attached ♂, showing position of sexual organs. × 52. — Fig. B. Lateral view of adult pair, reconstructed from sections. × 52. *e. s.*, egg sacks; *kp.*, "Keimpolster"; *o'dt.*, oviduct; *ov.*, ovary; *rec. sem.*, receptaculum seminis; *te.*, testis; *vsl. sem.*, vesicula seminalis.

are concerned in the nourishment of the spermatogonia, which immediately follow and are usually in active multiplication (Plate IV, Fig. 1).

That the "Keimpolster"[2] does not give rise to the germ cells is shown by a study of the sex glands in immature females, of the stage shown in Fig. C. Here the ovaries (Plate IV, Fig. 2) consist of two short curved tubes, each containing nine oögonia — the first two showing the chromatin in prophase condition. At this stage there is a "Keimpolster"[2] of four cells, lying between the ovaries and clearly separated from them by a membrane. The cells of this "Keimpolster"[2] have the same large clear nuclei and black staining cytoplasm which characterized the cells in the "Keimpolster"[2] of the adult, and make them stand out in contrast to the chromatin-rich germ cells.

fluid. The testes proper, as paired tubes, run caudad, then make a sharp turn ventrally and run cephalad. The seriation of the stages in the spermatogenesis (Plate IV, Fig. 1) is all that could be desired. In mature individuals the dorsal tube and the bend of the testis is composed of spermatogonia — the most active zone of multiplication being just posterior to the "Keimpolster". In the ventral tube, running cephalad, one finds in sequence the various stages in the growth of the spermatocytes. The pre-leptotene, leptotene and conjugation stages are followed by a large number of cells in the bouquet stage. The strepsinema comes next, shown by only a few cells in each testis; and then follows the condensation of the threads into compact tetrads, this being more abundantly represented. The maturation divisions, which are never numerous, are next in order; and last (most anterior) the zone of metamorphosis where the round spermatids develop into long-tailed spermatozoa which. when mature, make their way along the ventral walls of the testes into the underlying seminal vesicles (*vsl. sem.*, Figs. *A—B*).

Textfigure C.



Immature female, dorsal view. × 52.
d. g., dorsal groove; *l.d.*, lateral depressions for attachment of male; *o. v.*, ovary.

B. Ovaries.

The ovaries are built on the same general plan as the testes (Figs. *A*, *B*, *C*, and Plate IV, Fig. 3) and show a beautiful sequence in the seriation of the younger stages. Dorsal and medium in the thorax lies an oval "Keimpolster" (*kp.*, Figs. *A—B*); and on either side of this "Keimpolster" the ovaries begin as narrow paired tubes, which first run caudad for a short distance. This part is composed of oögonia and oöcytes previous to the bouquet stage. The tubes then bend sharply and run cephalad and laterad. At the bend and for a short distance farther, the oöcytes are in the bouquet stage (Plate IV, Fig. 3). These are followed by oöcytes of gradually increasing size (Fig. *A*); and then (in individuals which have not recently laid) by large eggs, all in practically the same stage and arranged in four main groups, right and left. The first maturation spindle is formed in the uterine eggs before they are laid. The oviducts (*o'dt*, Figs. *A—B*) pass caudad on either side of the intestine, come into connection with the large spermatotheca, and terminate dor-

sally behind the fifth swimming legs. The egg sacks are carried between the shield-like portion of the thorax, which overlaps the abdomen, and the large fifth swimming legs, to which they are firmly attached. When the egg sacks are first formed, the eggs are a much deeper red or orange than in their later development.

V. Spermatogonia and Oögonia.

A. Spermatogonia.

In a study of the entire literature on Copepods, one finds very little concerning spermatogonial and oögonial mitoses. Even in the more recent works, with the exception of Chambers ('12) and Krimmel ('10), we see no metaphase plates figured. Moroff ('09), in a work in which he treats the phenomena of the maturation of copepod eggs entirely from the standpoint of a protozoan investigator, and who lays no significance on the phenomena of mitosis or tetrad formation, found in his preparations no karyokinetic figures in the multiplication zone. He therefore thinks it probable that multiplication takes place by amitosis. His figures (40—42, Taf. XXXV) are far from convincing; and since all other workers on Copepods have found spermatogonial and oögonial mitoses, it is not likely that they are absent in the forms of the Triest plankton.

The problem however is not mitosis or amitosis, but the relation of the chromosome number in the spermatogonia and oögonia to that in the spermatocytes and oöcytes — a question which Rückert, as early as 1894, discussed for the Copepods because the works of Ishikawa ('91) and Haecker were not in accord with his own results on *Cyclops*. Matscheck ('10), after quoting vom Rath '95 as to the unfavorableness[1]) of the oögonia and spermatogonia for study, gives slight evidence (Textfig. 15) that the haploid number occurs in the oögonia, as vom Rath ('95) found for *Anomalocera*, and questions the result of Lerat ('05), who claims the diploid number of chromosomes for the oögonia and spermatogonia of *Cyclops strenuus*.

In *Hersilia* all stages in the multiplication of spermatogonia and oögonia could be seen. Immediately behind the "Keimpolster" and before the bend of the testis are the karyokinetic figures, never in the

---

[1]) Lerat and McClendon state that the diploid number of chromosomes appear in the spermatogonia, but do not give figures. Krüger states that counting was impossible, the chromosomes of the oögonial metaphases being massed together in a solid, deeply staining plate. This is probably due to fixation with sublimate, which is suitable only for eggs in advanced growth period or in maturation or cleavage.

ventral tube itself. Flat metaphase plates are far from numerous but prophases and anaphases can be observed in almost every testis.

In the quiescent spermatogonium (Plate V, Fig. 5), there is a fine network over which the chromatin is scattered, not evenly, but massed more or less into clumps. Within the nucleus, as a rule, are two spherical nucleoli, usually of unequal size; but at times a single nucleolus, larger than these paired nucleoli, occurs in the spermatogonium. HAECKER ('02) figured such paired nucleoli for *Heterocope* (his Fig. 23, Taf. II), using them as evidence for the parental duality of the spermatogonia.

Lying on the nuclear membrane in the cytoplasm are scattered, in varying number and size, disks of a substance which stains like the nucleoli. Thus in a double stain, DELAFIELD's haematoxylin and Orange G, they take on a deep orange color. In carmine, after CARNOY fixation, they remain light pink, whereas the chromatin is deep red. HEIDENHAIN's haematoxylin, gentian-violet, crystal-violet and safranin stain the disks, the nucleoli, and also the chromosomes. The staining reaction in DELAFIELD's haematoxylin and carmine would indicate that these disk-like bodies are not chromatic, but more of the nature of true nucleoli or plasmosomes. In as much as they occur in the cytoplasm we may call them "cyto-plasmosomes". These "cyto-plasmosomes" are very much in evidence during the growth period of the spermatocytes; and it is well to note that they are already present in the spermatogonia, and are not extruded from the spermatocyte nuclei in the period of greatest metabolic activity.

In preparing for mitosis the fine network becomes less evident and the chromatin forms long angular bands (Plate V, Fig. 6), which are not joined together in a spireme. The nucleoli are still plainly visibles at this stage. The chromosomes then shorten, take on a more homogeneous character, and stain more deeply (Plate V, Fig. 7). At the middle or near the middle they show a marked tendency to form an angle. These angles are probably an indication of the "Querkerbe", which first comes into plain view in the contracted chromosomes of the metaphase plates. And now the nucleoli can no longer be recognized. Figure 8 represents a metaphase (equatorial) plate, in which twenty-four chromosomes are present, many of them showing a light transverse streak or "Querkerbe". The "Querkerbe" usually marks the chromosome into two equal parts, but not without exceptions. At least two pairs are asymmetrically segmented — a fact supported by the chromosomes in the metaphase plates of the second spermatocyte (Plate VI, Fig. 35) and the primary oöcyte (Plate VI, Fig. 49). Two short chromo-

somes (*s.s.*) without a "Querkerbe" form another pair, which is conspicuous, also, in the second spermatocytes and oöcytes. When the longitudinally cleft chromosomes with "Querkerbe" are tilted in the plate (upper left, Fig. 8), they appear as "tetrads". This fact is of importance, in as much as the appearance of "tetrads" in soma, cleavage and primordial germ-cells has been used as an argument against syndesis and the significance of tetrad formation.

In the cytoplasm of the metaphase stage lie the cyto-plasmosomes. The attachment of the spindle fibers to the chromosomes is usually medium and the sister chromosomes of the anaphase (Plate V, Fig. 9), in passing to the poles, form V's. Often in the late anaphase the chromosomes lie so nearly in one plane, that, in polar view, a count of their apices is not difficult. The result of such counts is twenty-four in most cases, twenty-two or twenty-three in others. Never however did the count approach the reduced number. The cyto-plasmosomes seemingly have no direct connection with the centrosomes, and are distributed by chance to the two sister cells, one often receiving many more than the other. The telophase chromosomes become gradually fainter in outlines (Plate V, Fig. 10), and a clear area in the cytoplasm begins to form about them. It is, I believe, the boundary between this clear area and the more reticular cytoplasm which forms the new nuclear membrane. The chromosomes, scattered through the newly formed nucleus, send out processes, and only several granules in each remain deeply stained. The cyto-plasmosomes (*cpl.*, Plate V, Fig. 11) are found against the nuclear membrane, and within the nucleus there are as yet no nucleoli.

B. Oögonia.

The division of the oögonia occurs only in that portion of the tube which immediately borders the "Keimpolster". The phenomena of mitosis are practically the same as those described for the spermatogonia, except that one nucleolus, instead of two, characterizes the quiescent nucleus. The prophase chromosomes do not form from the segmentation of a spireme, nor do the telophase chromosomes form a spireme before they become indistinct. Here also (Plate VI, Fig. 44) the diploid number, twenty-four chromosomes, are present, most of which show a distinct "Querkerbe". The short pair without transverse suture (*s.s.*) is also recognizable.

The facts presented for *Hersilia* are supported by observations on *Diaptomus coeruleus*. After Hermann's fluid fixation, the spermato-

gonial chromosomes stand out with a clearness and sharpness which reminds one of *Hemipteron* preparations. Twenty-eight chromosomes (the diploid number), all with distinct "Querkerbe", can be counted.

VI. The Growth Period.

A. Spermatocytes.

The growth zone of the testis begins at the bend of the dorsal tube and occupies the greater part of the ventral tube. The cells resulting from the ultimate spermatogonial division increase in size, the chromatin remaining in a fine network like that of the quiescent spermatogonia. The paired nucleoli are formed anew and are very conspicuous, as are the cyto-plasmosomes on the nuclear membrane. To illustrate the changes from this stage to that of the bouquet stage and at the same time show the seriation, it was thought best to select a portion of a single longitudinal section, as represented in Fig. 12 (Plate V). Cells *a* and *b* are nearest to the bend of the testis (caudad); cells *g* and *f'*, nearest the maturation zone (cephalad). A corresponding portion of a testis is shown at *a—g* in Figure 1 (Plate IV).

In the formation of the leptotene threads, the first change is a thickening of portions of the fine network of the quiescent nucleus, resulting in dark zig-zag threads (Fig. 12, *a*); and as these chromatin bands become more noticeable (Fig. 12, *b*), the network between them becomes less distinct. In the next stage (Fig. 12, *c*), the leptotene threads can be more easily followed, as they are quite angular and ragged in outline, being composed of dark irregular granules connected by thinner portions which stain less deeply. The formation of the leptotene threads in *Hersilia* can not be traced back, as in various Orthoptera (Wilson, '12), to chromatin masses formed from the chromosomes of the ultimate spermatogonial telophase and from which the threads uncoil.

The next stage (Fig. 12, *d*) is characterized by the beginning of a polar orientation of the threads, which are now less ragged in outline, although still quite angular. Their free ends point toward one side of the nucleus, generally designated the positive pole. Concomitant with the orientation of the threads are two other phenomena: the approach of the nucleoli toward one another and usually toward the positive pole, and the fusion of the cyto-plasmosomes (*cpl.*) into two or three of larger size. In Figure 12, *e*[1]) we have what may be called the leptotene

[1]) The stages represented in Figure 12 *d—f'* are those most sensitive to the fixing agent, as is shown by a contraction, known generally as synizesis. It is only in the

bouquet stage. The threads, now less angular, seem to have their free ends so strongly attracted to the positive pole that in a great many cases they run parallel to one another. Thus, from an optical section viewed pole-wise, one can get an estimate of their number. Such a section, which is fairly accurate, considering the high power objective and ocular used, is represented in Figure 13 (Plate V). The focus was taken as nearly as possible through the middle of the nucleus and not changed while making the camera drawing. The threads, so seen in end view, have a deeply staining center, surrounded by a gray mantle. Counts yielded between forty-five and fifty, which would indicate that there are between twenty-two and twenty-five leptotene threads, each of which, in the form of a loop, would be seen twice in an optical section (Fig. 13). Such a representation is most instructive, however, when compared with similarly viewed cells of later stages (Figs. 16, 18, Plate V).

Either during the period in which the leptotene threads are still in the form of a bouquet, or in the subsequent stage, the nucleoli come together and fuse, and the cyto-plasmosomes unite to form a large conspicuous "nuclear cap" (*n.c.*, Fig. 12 *f*, 14, 15, 17). At the positive pole the cytoplasm stains more deeply and appears more compact, or less reticular in structure. Buchner ('10) has shown that, during the bouquet stage in the spermatocytes of various organisms, a centriole, often surrounded by mitochondria, can be observed at the positive pole. To this centriole is attributed the force which causes the orientation of the threads. In *Hersilia*, we have to deal, probably, with some force acting from the positive pole, although the centrioles, which even in the mitoses are inconspicuous, could not be seen. The substance which

---

small minority of my numerous (175) preparations from eighty separate lots, fixed in strong Flemming's fluid and all treated as nearly as possible in the same manner, that such a contraction in these stages is not shown. I am strongly inclined to believe that synizesis, at least in *Hersilia*, is an artifact; because, when it occurs, there always exists between the contracted chromatin and the nuclear membrane a space devoid of protoplasmic substance.

Krüger ('11, p. 176) believes that the contraction is not a product of the fixation, in as much as he found it in "tadellos konservierten Stücken" (his Figs. 1, 2, Taf. VII). He thinks, however, that Lerat's figures ('05, Plates I, IV) show an artificial synapsis. A comparison of the figures of Krüger and Lerat shows that both have to deal with the same phenomena of shrinkage, somewhat more marked, perhaps, in Lerat's preparations. Both investigators used sublimate reagents, which, according to the experience of the author, are the most unfavorable for a good fixation of these delicate stages.

forms the "nuclear cap"[1]), unlike mitochondria, is seemingly repelled by the orienting force, for the cyto-plasmosomes never unite in the vicinity of the positive pole. The nucleolus resulting from the fusion of the two nucleoli also shows repulsion and lies opposite the positive pole (Figs. 14, 15, Plate V).

The changes taking place in the chromatic substance in the following stage are the most marked and undoubtedly the most rapid of any in the growth of the germ cells (Figs. 12 *f*, *f'*, 14—16). The first thing to attract attention in such a nucleus is the loss of the orderly polar arrangement of the threads; and, secondly, we see three kinds of threads — thick threads double along their entire length, thin threads similar to those of the leptotene bouquet, and threads double along part of their length, then spreading out into two thin branches in the form of a Y or a T. The fact that in the only transitional stage between the leptotene bouquet (Fig. 12 *e*) and the zygotene bouquet (Figs. 12 *g*, 17), one finds single threads, double threads, and threads partly united in the same nucleus argues for a side by side pairing of the leptotene threads. Neither a gradual thickening of the leptotene threads, nor any indication of a broadening and splitting of the granules composing them could be found. The entire evidence pointed toward a doubling through parasyndesis.

That such cells, as shown in Figures 12 *f*, *f'*, 14 and 15, are transitional stages in the union of the leptotene threads into double chromatin bands of half the number is upheld by a comparison with optical sections viewed from the positive pole, as Figures 13, 16, and 18. (Compare lateral view, Figures 12 *e*, 14, and 17.) In the leptotene bouquet between forty-five and fifty ends were counted. Figure 18 represents a similar optical section of the zygote ne bouquet, which is also characterized by an orderly polar arrangement of the threads. Cross sections of these threads show two deeply staining centers, and the result of counts in such nuclei varied from twenty to twenty-five, indicating that half as many loops are present as in the leptotene bouquet. If we now examine a cell in the transitional period (Fig. 16), we find that the disturbance of the polar orientation of the loops makes counting much more difficult — lengths of either single or double threads being always in-

---

[1]) Steuer ('03), in a study of *Mytilicola*, describes a disk-like body in the growth of the spermatocytes, which he calls the "Idiozom" or "Centrotheca". This body stains deeply in iron-hämatoxylin; but, if strongly decolorized, shows two centrioles within. Whether or not this "Idiozom" is homologous to the "nuclear cap" in *Hersilia*, cannot be decided from Steüer's figures.

cluded in an optical section. For instance, from the positive pole, take an optical section passing through the middle of such a cell as Figure 15 represents. The conjugant (*cg.*) would be seen three times: a length of double thread and two cross sections of the non-conjugated portions. Between thirty and forty cross sections (average thirty-five) of double and single threads could be counted in cells showing conjugation (Fig. 16), a result intermediate between that of the leptotene bouquet and that of the zygotene bouquet.

As has already been stated, it is either just previous to or during the conjugation stages that the fusion of the two nucleoli takes place and the union of the cyto-plasmosomes forms the "nuclear cap". We immediately ask ourselves: Are these unions merely coincident with the conjugation of the chromosomes, or are these plasmatic bodies acted upon by the same force or forces which cause the chromosomes to conjugate? An answer to these questions cannot be given, for we know too little about the forces causing conjugation; but these forces are to be sought, I believe, rather in the chromosomes themselves than in the centriole, which probably does bring about the orientation of the loops in the bouquet stage. My reason for believing that the conjugating force is resident within the chromosomes themselves, is based on the fact that, during the transitional or conjugation stage, the regular polar arrangement is partly lost in the approximation or search (?) of homologous chromosomes for each other. The conjugating force, during this period, shows itself stronger than the orienting force.

The region of the testis immediately following the conjugation stage (farther cephalad) is composed entirely of cells in the zygotene bouquet stage (Fig. 1, Plate IV; Figs. 12 *g*, 17, Plate V). Throughout this period the chromatin bands show a light longitudinal line with the deeply staining chromioles symmetrically arranged along both sides. There is no indication of an actual fusion of the conjugants in *Hersilia*. The "nuclear cap" and nucleolus are very prominent in the bouquet stage; but in the older cells, that is, in those nearer the maturation zone, the nucleolus decreases in size and the "nuclear cap" loses to a great extent its affinity for Heidenhain's haematoxylin.

The end of the bouquet stage is marked by the loss of the polar orientation of the chromatin bands, which, instead of remaining loops, often show a sharp angle either at or near the middle of their length. Soon the conjugants begin to separate from each other along the light longitudinal line. This process is illustrated in Figures 19—21 (Plate V); it may begin at one or both ends of a pair, in which cases it opens out

into a V or an X, or the ends may remain in contact and the pair separate along their length forming a ring. The variations in the forms produced by the separating conjugants seem to be unlimited, although the ring form (*r*, *r*, Fig. 21) is most probably the primary type and that which is found, almost without exception, in the oögenesis. In rare cases, this ring form is and remains the prevailing type in the spermatocytes, as illustrated by Figure 24 *a—b*, where there are seven ring tetrads. The strepsistene threads are shorter and thicker than were the leptotene threads during the conjugation period. In *Hersilia*, there is no twisting of the conjugants about one another; and, since they separate along the plane of conjugation, which is visible during the entire bouquet stage, there is no evidence that an exchange of segments takes place.

In condensing, the strepsistene threads form tetrads[1]) of various forms, shown in Figures 23—25 (Plate V) and Figures 29 and 50 (Plate VI). These variations depend mostly upon the connections which remain between the separating threads. Vom Rath ('92, p. 114), in his study of various marine Copepods, *Calanus* and *Euchaeta*, remarks upon the striking difference between the chromosomes of the primary oöcytes and those of the primary spermatocytes in the same species. The same is true for *Hersilia*: in the oöcytes, the tetrads being in ring forms or paired parallel rods (Figs. 50, 51, Plate VI), while in the spermatocytes, rings, crosses and long rods with knobbed ends are found, the last mentioned form being that most usually met with (Fig. 29, Plate VI).

Textfigures *D—H* illustrate in a semi-diagrammatic way the evolution of the tetrads in both sexes, the "Querkerbe" being indicated by an asterisk (*). As previously stated, the double zygotene bands, before separating in the strepsinema, often come to a sharp angle at or near the middle, and it is quite probable that this is an indication of the linin bridge which later forms the "Querkerbe". Figure *D* 1 shows a zygotene thread bent at the middle; the components separate along their length, the ends remain in contact (Fig. *D* 2, *D* 3). The chromosomes broaden and split lengthwise and one point of contact (left, Fig. *D* 4) broadens. The further condensation to the form of a ring tetrad, such as is usually found in the oöcytes, is represented in Figures *D* 5, and *D* 6. The "Querkerbe", as a light transverse line across the middle of each chromosome

---

[1]) The terms "tetrad" and "di-tetrad" are both used by the author in the same sense, to designate the chromosomes of the first spermatocyte or first oöcyte, since the tetrads of Hersilia are compoced of two longitudenally split chromosomes and are not actually composed of eight parts as indicated in the work of Matschek. The Querkerbe is merely an internal differentiation of each of the components of the tetrad.

would be seen best in a polar view of the equatorial plate (Fig. 49, Plate VI). In the spermatocytes, the ring (Fig. *D* 4) generally remains in contact only at the broad end, and the other end opens out gradually to form a rod-shaped tetrad. This is diagrammatically shown in Fig. *D* 7—9. and ad naturam in Figures 23 *d—f*, 25 *h* (Plate V) and Figure 29 (Plate VI). As in *Amphiscepa bivitatta* (Kornhauser '14), the ring in opening out (Fig. 23 *e*) sometimes shows linin fibers be-

Textfigures D—H.

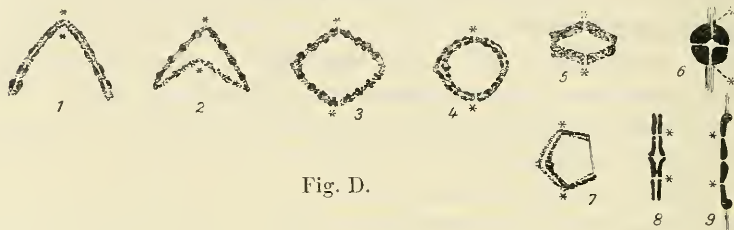


Fig. D.

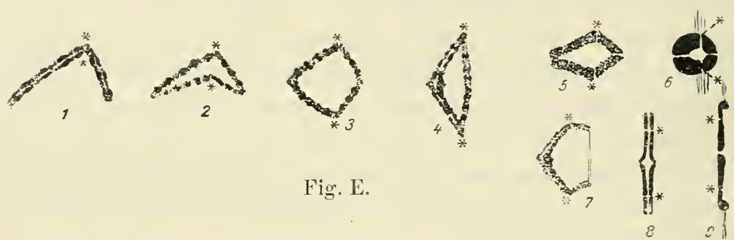


Fig. E.



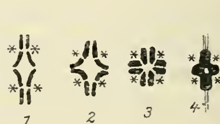


Fig. F. Fig. H. Fig. G.

Diagrammatic representation, showing the formation of the various types of tetrads in *Hersilia.*

tween the diverging ends. Rod-shaped ditetrads (Fig. *D* 8, 9) are also formed when sister chromosomes separate in the strepsinema along their entire length (Fig. 20, vertical pair), then shorten and split longitudinally (Fig. 22, Plate V). The "Querkerbe" can never be seen as a light transverse line until the chromosomes are fully contracted, it being merely indicated by an angular bend in the thread.

Figure *E* represents a case similar to that shown in Figure *D*, except that here the angular bend in the thread is not at the middle. An example

of this sort is seen in Figure 21 (Plate V), to the right of the middle, partly covered by the strepsistene thread (*r.*), which lies transversely in the nucleus. The separation of the components and their contraction is shown in Figure *E* 2, 3 and 4, the latter being based on such pre-tetrads as those in Figure 23 *b*, *c*. In the oöcyte, the further condensation of the chromosomes (Figs. *E* 5—6) would result in a tetrad with the "Querkerbe" nearer one end (the right, in this case) than the other, when viewed in the evuatorial plate. Figures *E* 7—9 show the production of the rod di-tetrad, the "Querkerbe" being nearer the ends than the middle, as in Figure 25 *g*. Such an asymmetrical tetrad is figured by Agar ('12) for *Lepidosiren* (his Fig. 13 *c*, Plate XIII).

Various other forms of tetrads are met with occasionally in the maturation spindles, and Figures *F*, *G*, and *H* show how they may arise. If the separation of the threads in the strepsinema begins at both ends (Fig. 20, the transverse pair) and the chromosomes remain in contact at or near the middle, tetrads of X-form result (Fig. 23, *h*—*j*). The production of the type of tetrad shown in Figure 25 *e* from such an X-form is represented in Figure *H*. The two sister chromosomes, in contact with each other at the "Querkerbe", open out so that the two portions of each come into contact laterally. The "Querkerbe" itself is not to be seen in such a tetrad, but it is certain from its form that whole chromosomes separate in the first maturation division. This type of tetrad resembles to some extent the butterfly tetrads of *Nezara* (Wilson '11) and *Notonecta* (Browne '13). There are also two types of cross-shaped tetrads to be seen in the spermatocytes: those which stand upright in the spindle (Fig. 25 *c*, *d*), and those which lie sidewise in the spindle (Fig. 25, *a*, *b*). The former is diagrammatically pictured in Figure *G*; the latter, in Figure *F*. The cross in Figure *F* is, I believe, merely a modification of the four-parted ring tetrad; for in late prophases of the first spermatocyte division, one often finds forms which are intermediate between the ring and the cross form (Figs. *F* 2, 25 *a*). By further condensation a cross would result. The upright cross is more difficult to understand, but a possible explanation is given through the form shown in Figure 25 *c*. This is represented in Figure *G*. The rod-shaped tetrad of the spermatocyte often shows at the middle a slight tendency toward cross formation (Fig. 25, *h*); and if the small lateral arms should increase in size, as in *Syromastes* (Gross '06), a cross would result showing a vertical and transverse light line, the interchromosomal plane (Figs. *G* 2, 3). It is most probable that the increase of the lateral arms would continue only until the "Querkerben", at which the chromosomes tend to bend,

were in contact (Fig. *G* 3), and through further condensation the type in Figure *G* 4 would be reached.

Figures 24 *a—b*, and 26 *a—b* picture two spermatocytes before the formation of the spindle. The former is unusual, for at this stage seldom more than two ring tetrads are to be found in the nucleus. The cell shown in Figures 26 *a—b* is slightly more advanced than that in Figures 24 *a—b*. The chromosomes are fully condensed and show neither the longitudinal division nor the "Querkerbe"; the cell membrane is no longer present, and the nucleolus has entirely disappeared; the "nuclear cap" is contracted or diminished in size to a small sphere, which shows a light staining center, as if it were hollow.

A count of the chromosomes in this cell shows that thirteen are present. In as much as the normal number of chromosomes in the spermatogonia is twenty-four and the primary oöcytes (Fig. 49, Plate VI) all have twelve chromosomes, it is puzzling to understand why there should be thirteen here. This is, however, explained by the maturation divisions which show that in the male there is a peculiar pair of chromosomes which do not behave like the autosomes.

B. Oöcytes.

The seriation of the stages in the oögenesis has been described in considering the structure of the ovary, and the minute details in the formation of the leptotene threads and the conjugation will be omitted, as it would be but a repitition of what occurs in the spermatocytes. Figures 45—47 (Plate VI) demonstrate the similarities and differences in the two sexes. The leptotene threads (Fig. 45) never assume the orderly arrangement toward the positive pole to the same degree as that found in the spermatocytes (Fig. 12 *e*). Thus the threads present a far more scattered and confused appearance, a condition which is also characteristic of the cells showing conjugation (Fig. 46); and on account this less orderly arrangement of the threads and the larger size of the of nucleus, the conjugants can be more easily seen and followed. In the middle of Figure 46, one sees a pair of threads which have conjugated along the middle but which are still separate at both ends; at the left is a pair which have begun the process of conjugation from one end. In this nucleus, besides the conjugants, there are completed double threads and wholly unconjugated leptotene threads. — indicating a progressive union. That the process is a progressive one is proved by the stages immediately following, in which all the threads are double. Concomitant with the conjugation of the leptotene threads are the union of the cyto-

plasmosomes (*cpl.*, Fig. 45) to form a large "nuclear cap" (*n.c.*, Figs. 46, 47), and the fusion of the nucleoli (*nll.*, Fig. 45) to one of greater size (*nll.*, Fig. 46). Following the bouquet stage (Fig. 47), in which the doubleness of the threads is very apparent, come the stages which are not present in the spermatocytes. First there is a more orderly arrangement of the loops toward the positive pole, together with a narrowing of the chromatin bands, and the disappearance of their light longitudinal line, or conjugation plane. This is the beginning of the long period of growth in the oöcyte. The chromosomes gradually lose their compactness and staining power, forming indistinct, flocculent areas; the nucleolus increases in size; and the "nuclear cap" breaks up into cyto-plasmosomes which are very conspicuously seen against the nuclear membrane (shown on a small scale, Fig. 3, Plate IV). The chromosomes are not again visible until the oöcyte has completed its growth, then they come into view as strepsistene threads, such as figured by Krüger ('11) for *Canthocamptus* (his Figs. 3 *a—b*. Taf. VII). In *Hersilia*, the chromioles are so large and the connections between them so inconspicuous that they look like chains of beads. The strepsistene threads contract to form double rods (Fig. 48, Plate VI), which often show an angular bend at the middle (the upper pair, Fig. 48) and always have granules between them which stain more deeply than the chromatin itself in iron-haematoxylin. The exact nature of this substance is not at all clear; but it is probably the same substance that exists between the components of the tetrads of the metaphase plate, as can be demonstrated by staining Flemming material with crystal violet and alizarin, and then decolorizing until the chromosomes retain only the alizarin. A band which stains a deep violet can then be seen between the chromosomes, and the points of attachment of the spindle fibers have the same color (Fig. 51, Plate VI).

The stages following that shown in Figure 48, — namely, the further condensation of the chromosomes, the disappearance of the germinal vesicle, and the formation of the spindle — are hidden by the deep stainability of the entire region in which they take place. This phenomenon has been described by Matscheck ('10, p. 78) for *Diaptomus*. In the equatorial plate (Fig. 49) are twelve chromosomes, eleven with a "Querkerbe", which in several cases is nearer to one end, and one chromosome (*s.*) without a "Querkerbe". Seen in lateral view (Fig. 50, Plate VI), the chromosomes are in the form either of rings or of parallel rods. At the right in Figure 50 is a ditetrad comparable to that shown in Textfigure *E* 5, in which the "Querkerbe" does not divide the chromosome into two equal segments.

VII. The Spermatocyte Divisions.

In contrast to the primary oöcyte metaphase (Fig. 49, Plate VI) in which the chromosomes are easily counted, the metaphase plates of the primary spermatocytes present great difficulties. This is understood when one views the spindle laterally (Fig. 29, Plate VI). Here the chromosomes are of such a varied form — long rod-like forms with thickened ends, ring forms as in the oöcyte, and single rods lying with their long axes in the equator — that it is almost impossible to make an accurate count of the number, unless the plate is viewed exactly from one of the poles of the spindle. Twenty-three such plates were drawn; in seventeen cases thirteen chromosomes were present (Fig. 27, Plate V), and in six cases twelve chromosomes (Fig. 28, Plate V) were counted. As later stages show, this variation is due to the conjugation or lack of conjugation (in about three-fourths of the cases) of a pair of chromosomes (*h*, *h*, Figs. 29—32), which lag behind in the anaphase. Whether this pair of chromosomes is exactly comparable to the paired "sex-chromosomes" is an open question; but, in their behavior during the maturation divisions. they do resemble the hetero-chromosomes of *Rhabditis* (Boveri, '11; Schleip '11), and certain Coleoptera and Diptera described by Stevens ('08; '09). In *Rhabditis* there are six tetrads in the primary oöcyte, whereas in the primary spermatocyte metaphase there are seven chromosomes, — five tetrads, and two diads, the hetero-chromosomes. Schleip found also that the hetero-chromosomes were occasionally joined to one another, so that six tetrads, as in the oöcyte metaphase, could be counted. These hetero-chromosomes in *Rhabditis* are evident in the growth period where they are more compact than the autosomes and in contact with the nucleolus. In *Hersilia* a search for the hetero-chromosomes in the growth period was unavailing; the only indication of anything unusual in the chromatin bands was the precocial separation of a pair of conjugants before the end of the bouquet stage, and this was found in only three cases.

Figure 30 represents an early anaphase. The autosomes separate reductionally, whole chromosomes transversely marked by a "Querkerbe" passing to the poles. The hetero-chromosomes (*h*, *h*), each attached to both groups of separating autosomes, lag behind. A stage somewhat later, which is even more striking, is shown in Figure 31. Cells in this condition are not at all uncommon, in fact they are far more plentiful than metaphase or telophase figures, indicating that the lagging of the hetero-chromosomes is a phenomenon of considerable duration. Owing to the variation in form, it was not possible to establish a morpho-

logical difference between these two chromosomes. The stout fibers passing from them to the sister groups of chromosomes are very noticeable; the position of the hetero-chromosomes in relation to the spindle is very variable — at times one or both lying with their longitudinal axis transverse in the spindle, and again parallel to the spindle, showing indications of a "Querkerbe". Figure 32 points out that the "hetero-chromosomes" do not divide in the first maturation mitosis, but that they separate reductionally like the autosomes, one passing wholly to each second spermatocyte. [In the cytoplasm of Figure 32 (also Figs. 28, 29) is seen a dark body, which is probably a portion of the "nuclear cap".] In this stage the fibers from the hetero-chromosomes to the opposite group of chromosomes is still visible.

The division of the cell body of the primary spermatocyte into secondary spermatocytes is not necessarily concomitant with the separation of the chromosomes into two groups. In fact, the division of the cytoplasm may not occur at all — two interkinetic spermatocytes or two second spermatocyte spindles (Figs. 37, 39) being found often in one cytoplasmic mass. The other extreme is shown in Figure 38. Here the cell body has evidently divided while one of the lagging hetero-chromosomes was still in the equator. The hetero-chromosome is seemingly held fast by the newly formed membrane between the sister spermatocytes, and is attached to both of the sister groups of chromosomes, which have arranged themselves for the second spermatocyte division. Two clear cases, such as illustrated in Figure 38, came under my observation; and, I believe, that it is not unlikely that such irregularities in the distribution of the chromatin, as this would bring about, may be associated with the occasional appearance of a hermaphroditic individual. A further consideration of this point and a description of a hermaphroditic sex gland (Fig. 4, Plate IV) will be found on pages 435—436.

In the interkinetic period (Figs. 33 *a—b*), the chromosomes do not enter into a net-work but remain plainly visible. The forms assumed by the chromosomes, are of interest; for on similar figures in the oögenesis of *Cyclops brevicornis*, Haecker ('02; '04; '07; '10) founded his theory of "Interkinetic Symmixis through Permutation".

Braun ('09) and Matscheck ('10), from their observations on *Cyclops viridis*, have already raised objections to the facts upon which this theory stands. *Hersilia* presents still further objections. Although the longitudinally split chromosomes of the interkinetic nuclei usually remain in contact only at the "Querkerbe", this does not always produce symmetrical X-figures, for the "Querkerbe" may be nearer one end than

the other (Fig. 34 *a*). If now there should be an exchange of portions of the split chromosome, the two short arms would have to fuse and separate themselves from the two long arms. Thus would arise a marked variability in the sizes of the chromosomes from one generation to another, and this we know does not exist. The presence of X-, Y-, and V-forms (Fig. 34), all in the same nucleus, and the single chromosome (*s*, Fig. 35) without a "Querkerbe" argue against symmixis by permutation, which would be possible only if symmetrical X-forms were produced in the interkinetic period.

The metaphase plates of the second spermatocyte division (Fig. 35) contain twelve chromosomes. In contrast to the first spermatocyte division, counting is not at all difficult, owing to the fact that the chromosomes (Fig. 36), longitudinally split, lie with their long-axes in the equator, and in such a flat plate, that all can be seen without changing the focus. Eleven of the chromosomes (Fig. 35) show a "Querkerbe", which in at least two is situated nearer one end. The twelfth chromosome (*s*) is single and homologous to that seen in the oöcyte (*s.*, Fig. 49). Figure 37 shows two sister metaphase plates in the same cytoplasmic mass — their spindles being parallel. Each plate contains twelve chromosomes. Whether separated or still united, sister second spermatocytes were always found in the same stage. In the division of the second spermatocyte which separates the halves of the longitudinally divided chromosomes equationally, one chromosome is noticeable, which, although split lengthwise, lags behind the others (*h*, Fig. 39); and there are distinct fibers passing from this chromosome to the two groups of anaphase chromosomes. In Figure 40 is seen a later condition, which is a stage of long duration, judging from the frequency with which such figures are seen. The fact that such a lagging chromosome is found without exception in the anaphase stage of the second spermatocyte division, and always in the same condition in sister cells, points out that we here have to deal with a definite chromosome different from the autosomes. From its behavior in the second maturation mitosis, it may most probably be identified with the lagging pair of the first spermatocyte (Fig. 31), one of which passed to each of the second spermatocytes (Fig. 32). In *Hersilia*, we have a case comparable to that of the Diptera and Coleoptera (Stevens' 08, '09), namely, a separation of the hetero-chromosomes in the first spermatocyte mitosis, and a halving of them equationally in the second mitosis. The lagging chromosome of the second spermatocyte (Figs. 39, 40) is not the small single chromosome of Figure 35, which, being morphologically unlike the others and resembling the hetero-chromo-

somes of *Cyclops* in size, might naturally be expected to be different from the larger chromosomes; but it is one of the larger individuals and often shows a "Querkerbe", especially when seen in lateral view in the second maturation division, with its halves joined to the two autosome groups. and in contact with each other at one end (Fig. 40).

Figure 41 represents a spermatid shortly after the division of the cytoplasm of the second spermatocyte. The hetero-chromosome lies beside the telophase chromosomes, which lose their identity in the formation of the spermatid nucleus. As the nucleus increases in size, a light area appears in the cytoplasm and at one side of this area the hetero-chromosome is located (Fig. 42). Such spermatids as that shown in Figure 43 indicate that the hetero-chromosome is included in the growing nucleus, the nuclear membrane forming last in the region of the light area. A similar case to this was found in the Coleopteran *Haltica* by Miss Stevens ('09). In the further metamorphosis of the spermatid, no evidence as to the presence of the hetero-chromosome could be found.

VIII. The Chromosomes of the Cleavage Cells and Primordial Germ Cells.

A. Cleavage Cells.

In the cleavage cells of *Hersilia* twenty-four chromosomes can be counted. Figure 52 pictures a metaphase (equatorial) plate of the third cleavage stage. The chromosomes are of varied form, long. and much larger than those of the spermatogonia and oögonia. In the rod forms the "Querkerbe" could sometimes be plainly seen; but the V-forms with only a thin strand connecting the two arms at the apex, were more numerous than rod forms, and this thin strand is doubtlessly equivalent to the "Querkerbe". Agar ('12) found these V-shaped chromosomes with connecting bridge to be the most usual type in the embryonic tissues of *Lepidosiren*. In Figure 52 are also to be seen those chromosomes in which the "Querkerbe" is not located at the middle and in form they generally look like "L's". The small single pairs are difficult to recognize, although most probably they are the shortest pair of rods, lying in the upper left of the figure. In the further development of the embryo, the chromosomes retain the same form exhibited in the early cleavage stages, but are smaller and more difficult to count. In the blastula (corresponding to the stage following that shown in Figure 53) twenty-four chromosomes could be counted in the dividing blastomeres. The results on *Hersilia* agree with those of Amma '(11) for many Copepods, as regards

the constancy of the normal number of chromosomes in the development of the individual; and with the observations of AGAR ('12), as to the presence of a "Querkerbe" in the mitoses of the embryo.

B. Primordial Germ Cells.

In the blastulae (Fig. 53) and gastrulae the two large primordial germ cells (*ug.*) remain quiescent; but the chromosomes, instead of entering into a network, remain compact, — in fact, they stain as deeply and clearly as chromosomes in mitosis. Counts of such cells (Fig. 54) were not difficult and gave the normal number, twenty-four. The chromosomes are longitudinally split and show also a "Querkerbe", so that they often appear as tetrads. AMMA ('11) found in the primordial germ cells of *Cyclops fuscus* (var. *distinctus*) eleven chromosomes, and in *Cyclops strenuus*, twenty-two chromosomes, all longitudinally divided and showing a "Querkerbe". He stated that SCHILLER's figures of tetrads, presumably brought forth by cutting the egg sacks (SCHILLER '10, Fig. 40, p. 591), were similar to those found in normal material. *Hersilia* certainly supports AMMA's contention, for a longitudinally split chromosome with "Querkerbe" appears in the form of a tetrad, and, when division is delayed, as in the interkinetic phase of *Hersilia* (Figs. 33 and 34), the halves of the chromosomes remain in contact at the "Querkerbe" and open out to form X-figures. In experiments dealing with the effect of ether and chloroform on the cleavage chromosomes, SCHILLER represents X-forms very frequently and describes them as tetrads. It is not improbable that these are merely normal, longitudinally split chromosomes, delayed in mitosis through the effects of the narcotics upon the spindles, and are not comparable to the tetrads of the first maturation division.

IX. Discussion.

A. Form and Number of the Unreduced Chromosomes.

The results on *Hersilia* go to show that the diploid number of chromosomes appears in the spermatogonial and oögonial mitoses and the haploid number in the meiotic spindles. This fact, while agreeing with the maturation phenomena in general in both animal and plant kingdoms, comes into conflict with a great many of the previous works on the Copepods. These works may be classified under two categories: 1) those maintaining that the reduced number of chromosomes are present in either the oögonial or the primordial germ cells (HAECKER '95b; VOM RATH '95;

MATSCHECK '10), and 2) those describing the same (unreduced) number of chromosomes in the spermatogonia or oögonia and in the metaphase plates of the first spermatocytes or oöcytes (ISHIKAWA '91; STEUER '03), the reduction in number taking place in the second maturation division. But in the above noted works, neither sufficient proof nor convincing figures of the chromosome relations, as described in the text, were given to establish these exceptions. The oöcyte or spermatocyte plates are figured, for they are clear and more numerous in Copepod material than good diploid groups.

Agreeing with *Hersilia*, we have the works of KRIMMEL ('10) and CHAMBERS ('12), giving metaphase figures showing that the diploid chromosome number is present in the spermatogonia and oögonia, while KRIMMEL ('10) and AMMA ('11) extend the facts to the primordial germ cells which also have the unreduced number of chromosomes. Not only is it certain that the diploid number of chromosomes are present in the spermatogonia, oögonia, and embryonic cells; but it has also been demonstrated that they show the presence of a "Querkerbe".

The author's observations on *Hersilia* and *Diaptomus coeruleus* are supported by the results of KRIMMEL ('10). AGAR ('12) worting on lepidosiren has treated the subject so thoroughly that the present work can add little to his. He has shown that the transverse constriction or segmentation for a given chromosome is a constant structure in a definite position; and that it is not produced by the union of two chromosomes nor is it the point of separation in the meiotic phases or embryonic development. He has also pointed out that HAECKER'S ('10) theory of Teleutosyndesis can not explain the presence or meaning of the "Querkerbe".

Even though it be somewhat monotonous to find one single method of maturation (parasyndesis followed by hetero-homeotypic division), yet the theory of teleutosyndesis is too weakly grounded to aid in understanding the maturation phenomena. This theory demands that the homologous maternal and paternal chromosomes unite in pairs, end to end (the "Querkerbe" being the only evidence of such a union), and in maturation pass through two longitudinal (equation) divisions. Each chromosome of the gamete is half maternal, half paternal. In the formation of a new individual, the chromosomes which are brought together by a union of two germ cells must show a "Querkerbe", which in the later development of the organism (earliest, in the formation of the sex glands) must disappear through the complete fusion of the maternal and paternal components of each. If the "Qerkerbe" is formed by metasyndesis in the growth period, then the oögonial and spermatogonial chromosomes

must not show such a structure[1]). This is contrary to the facts brought forth in the study of *Diaptomus*, *Hersilia*, and *Lepidosiren*. It would also be difficult to understand how the "Querkerbe" could be nearer one end than the other, since it is well known that, with the exception of hetero-chromosomes, the homologous chromosomes which conjugate are always of equal size. Then, too, there would be no syndesis for the chromosome without "Querkerbe", such as the small pair in *Hersilia*.

The possibility that the normal number of chromosomes is reduced by an end-to-end union in the primordial germ cells also encounters difficulties, in as much as the spermatogonial and oögonial chromosomes would have to appear in reduced number and with "Querkerbe". The fact that, in *Cyclops fuscus* var. *distinctus* (Amma '11), in *Diaptomus coeruleus* (Krimmel, '10) and in *Hersilia*, the normal number of chromosomes with "Querkerbe" have been found in the primordial germ cells speaks against this supposition. We have no evidence that a reduction of the chromosomes occurs in the primordial germ cells.

It must be admitted that our knowledge as to the origin or significance of the "Querkerbe" is as yet very incomplete. Not in the Copepods alone, however, is such a transverse suture seen; but it occurs also in other groups of animals of which the following are examples: *Ascaris canis* (Marcus '06); *Creseis* (Zarnik '11); and *Lepidosiren* (Agar '11, '12). This light staining crossband in the chromosome, be it a bridge of linin or other substance, is at any rate a constant structure and adds to the evidence that the chromosome is a complex individual. If one examines figures of the second maturation divisions, where the "Querkerbe" is usually most clearly seen (the chromosomes lying with their long axes in the equator), one can be assured that the "Querkerbe" is not a mere chance break in the chromosome brought about by the fixing agent, but is a part of the structure of the chromosome itself. One might assume that the "Querkerbe" has originated in the phylogenetic development of the Copepods by the permanent union of the chromosomes in pairs, but against this proposition is the fact that such a "Querkerbe" is also found in the Calanids, the most ancestral of the present-day Copepods.

B. Syndesis and the Maturation Divisions.

As noted in the introduction (pp. 400—401), the copepods have been bound up with the question of equation and reduction divisions, since

[1]) Haecker ('10, p. 190) says: "Dagegen haben wir bei der Entstehung der Gonaden und speziell in den ovogonialen und spermatogonialen Teilungen bis jetzt keine sichere Andeutung einer Querkerbe angetroffen."

cytologists first considered these phenomena. To say that there is a pseudo-reduction of the chromosomes[1]) of the primary oöcyte or spermatocyte, brought about by the segmentation of a spireme into half the normal number of bands, is wholly incomprehensible in the modern light of gametogenesis. None of the recent investigators have shown that such a spireme is ever formed in the production of the spermatocytes or oöcytes. In *Hersilia* it has been demonstrated that there is a definite series of stages leading up to the formation of double chromatin bands in reduced number. The leptotene threads gradually evolve from the network following the ultimate spermatogonial mitosis; these become regularly oriented toward the positive pole of the nucleus in the leptotene bouquet stage. Following is the period of conjugation and the production of the double threads of reduced number which soon become oriented as the zygotene bouquet. That the seriation of the stages is topographical in the testis of the Copepods eliminates the objections which the opponents of parasyndesis have so often made, — namely, that the seriation was a product of the author's mind and did not necessarily exist in nature. In the very first work on Copepod spermatogenesis, that of Ishikawa ('91, Figs. 1—22), with a magnification of only 850 diameters, we find practically a perfect seriation in the stages figured. Haecker ('02) remarks as to the schematic seriation[2]) of the stages as found in the testis of *Heterocope*. *Hersilia* is an object even more favorable that *Heterocope*, on account of the form of the testis, a long narrow tube.

On the other hand, the early stages in the growth period of the spermatocytes and oöcytes of the Copepods do not generally allow of good fixation, there being usually considerable shrinkage of the chromatin. It is to be regretted that the Schreiners ('06a, '09b) have never pub-

---

1) Matscheck, p. 99): »Die wirkliche numerische Reduktion der Chromosomen erfolgt, wie ich mit Rückert, Haecker und vom Rath annehmen möchte, bei den Copepoden durch unvollkommene Segmentierung des Chromatinfadens, indem der letzte Querteilungsprozeß unterbleibt oder nicht ganz durchgeführt wird und so zweiwertige oder bivalente Segmente entstehen (Pseudoreduktion, Rückert; Scheinreduktion, Haecker).«

2) Haecker ('02, p. 30): »Ich glaube sagen zu dürfen, daß die im Beginn der Fortpflanzung stehenden *Heterocope*-Männchen, wie sie im Titisee hauptsächlich im Juni erbeutet werden, nur hinter wenigen andern Objekten zurückstehen dürften, was den einfachen und übersichtlichen Bau der Hoden, die geradezu schematische Aufeinanderfolge der Stadien und die Größe und Schönheit der Kernteilungsbilder anbelangt.«

lished figures of their results on *Euchaeta norwegica*[1]), in which they found a parallel conjugation. They claim (SCHREINER's '06b), from their own experience, that the material is a difficult one, and that it is not surprising to find that, in the earlier investigations of HAECKER, VOM RATH and RÜCKERT, the conjugation of the chromosomes was overlooked. They state further that the older observations can not be used as an argument against their results and those of LERAT on *Cyclops strenuus*. MCCLENDON ('10) has shown that a parallel conjugation of the chromosomes exists also in the parasitic Copepod, *Pandarus*. Thus, in four widely separated types: (1) *Euchaeta norwegica*, a marine Calanid; (2) *Cyclops strenuus*, a fresh-water Cyclopid; (3) *Hersilia apodiformis*, a semi-parasitic Hersiliid: and (4) *Pandarus sinuatus*, a parasitic Caligid, — the process of parasyndesis has been shown to take place.

After these discoveries, we can scarcely speak longer of a "primary" and "secondary" longitudinal division of the chromosomes of the first maturation spindle. The "primary" longitudinal division is rather the plane of conjugation of two chromosomes; and, in the spermatogenesis of *Hersilia*, it has been shown that the chromosomes come apart along this plane and usually straighten out into long rods, which remain connected at one end and stand vertically in the spindle (Fig. 29, Plate VI). The "secondary" longitudinal division is the real and only longitudinal division of the chromosomes, and is the plane of separation of the chromosomes in the second maturation division (Figs. 35, 36, Plate VI). *Hersilia* is in complete agreement with the classical work of the SCHREINERS on *Tomopteris*, and a clear case of the hetero-homeotypic method of maturation.

C. Chromosomes and Phylogenetic Relationship.

The question whether the chromosomes can be used as an index to the phylogenetic standing of closely related species or genera has been most admirably and instructively discussed during the past year by FEDERLEY ('13). Likewise Miss BROWNE ('13) has reviewed the subject very thoroughly in a consideration of the possible homologies between

[1]) The marine Calanids, as *Euchaeta* and *Calanus*, and the fresh-water Cyclopidae, according to personal investigation, are the most difficult of Copepod material. The former have in the reduced number no less than sixteen or seventeen chromosomes, and in the latter almost invariably come large shrinkage spaces, as shown in LERAT's figures. Thus, it would seem that either the small males of semi-parasitic or parasitic species, with thin cuticula, or the males of large parasitic species from which the sex glands could be dissected before fixation, such as *Pandarus* or *Cecropes*, would offer far better material.

the chromosomes of the various species belonging to the genus *Notonecta*. Federley shows that, whereas there may be a general rule which holds that, in a series of related forms, the most primitive (oldest phylogenetically) have the largest number of chromosomes and the most specialized (youngest phylogenetically) the smallest number, yet such a rule would not be without exception. The genus *Pygaera* is such an exception, the series there being just the reverse of such a series as Braun has constructed for the genus *Cyclops*. Miss Browne also points out that, while in a majority of cases the chromosome number in closely related species or varieties does not show a wide fluctuation, yet there are many exceptions to this rule, such as the various forms of *Cyclops viridis* (Chambers '12b) and *Thyanta custator* (Wilson '07). Such wide differences in chromosome number can hardly be accounted for either by a fusion of the chromosomes to form complex chromosomes, such as the "butterfly-form" tetrad of *Nezara* (Wilson '11), or *Notonecta* (Browne '13), or by the segmentation of a multiple chromosome, such as the long pair in *Tachea hortensis* (Baltzer '13).

A comparison of the chromosomes in the biserial arrangement of the European *Cyclops viridis* (Braun '09) with those of *Cyclops viridis* var. *parcus* (Chambers '12a. '12b) shows that it is quite impossible to explain the reduction of six in the European form to three in the American variety (or species) by a process of fusion. Certainly there is less chromatic substance in the chromosomes of the latter. Our ideas of chromosomes are mostly bound up with a material basis for inheritance. As Federley ('13) has said, it is their stainability which has brought them to our attention; yet their behavior, not only in mitosis and gametogenesis, but also in hybridization and other experimental studies, proves that they are individuals and that the theory which designates them the bearers of heredity is no fanciful idea. The ideas of Boveri are generally accepted — that a complete set of chromosomes must be present in order that a complete individual may develop. Yet we are almost totally in darkness when we consider such a specific example as the following: Why is it that it requires eleven chromosomes (haploid number)[1]) for the production of an individual of *Cyclops strenuus*, and only two to bear all the determiners necessary to produce an individual of *Cyclops viridis* var. *brevispinosus* (Chambers '12a)? Both are members of the same genus and one possesses all the organs borne by the other. There seem to be but two methods by which we can attempt an explanation: (1) either

[1]) The haploid number is given here, because it is generally accepted that each gamete brings in a complete set of determiners.

we must lay less importance on the material composition of the chromosome and say that the size of a chromosome is no indication as to the number of determiners it bears, viz. that in one species (as *C. viridis* var. *brevispinosus*) a given chromosome can bear as many determining substances as two or three chromosomes equally as large in another species (as *C. strenuus*); or, (2) we must consider that the chromosomes in phylogenetically recent forms carry merely the specific or varietal determiners and perhaps the sex determiners. The latter proposition demands that, outside the chromosomes (in the cytoplasm or other constituents of the cell), lay the determiners which roughly guide and shape the development of the organism so that, let us say, a Copepod must result with the characters of a member of the genus *Cyclops*, but along with this development come the effect of the chromosomes which tend to the finer details and settle to which species this *Cyclops* shall belong. If this be true, then there would be little chance of finding many homologous chromosomes even between species of one genus or the species of nearly related genera of highly specialized organisms. The elimination of the majority of the paternal chromosomes in sea-urchin crosses (Baltzer '10), and the failure of the majority of chromosomes to conjugate in the germ cells of Lepidoeteran hybrids (Federley '13, '14) would stand in favor of such a view.

As to when or how the generic determiners become located outside the chromosomes, little can be said. Braun ('06) and Matscheck ('01) described micro- and hetero-chromosomes (loc. cit. p. 432) for various species in the genus *Cyclops*. These are usually much smaller than the tetrads, are sometimes paired, sometimes unpaired, and seldom show a "Querkerbe". Matscheck describes the hetero-chromosome in *Cyclops vernalis* as sometimes being present and sometimes absent. Both of these authors consider the hetero-chromosomes of *Cyclops*, not as sex-determiners, but as stages in the disappearance of chromosomes. Whether this gradual diappearance (?) of a chromosome is connected with the transfer of determiners to other constituents of the cell must remain an open question.

If then we find it impossible to homologize the chromosomes of closely related species and genera, is there still something distinctive in their form or size which may be of use from a systematic standpoint as, for example, the complex hexad or octad occurring throughout the various species of certain Orthopteran genera (McClung '08), or the large curved pair of chromosomes met with in so many Homopterans (Stevens '06; Boring '07, '13; Kornhauser '14)? In a comparison of the spermatocytes of insects, a certain character in the form of the chromosomes and spindle is distinctive of each of the larger sub-divisions, under which

the insects are classed. The large cells and long curved chromosomes of Orthopterans: the shorter. thick. clear cut chromosomes of the Hemiptera; the small spherical chromosomes of the Lepidoptera; and the numerous minute chromosomes of the Hymenoptera: each is characteristic for its order. Should a cytologist, well acquainted with the spermatocytes of the various orders of insects. receive for examination a species, which through parasitism had lost the morphological (somatic) characters of the order to which it belonged, could he determine in which order it should be placed from an investigation of the spermatocytes? Were the members of this order well known cytologically, the question would probably be answered in the affirmative.

Problems of this nature are far more numerous in a consideration of the Copepods, the majority of which are either parasitic or semi-parasitic and the systematic relationship of the families to one another and to the free-swimming forms is often but a matter of conjecture.

D. The Classification of the Copepods.

The Copepods must be looked upon as a highly successful group of organisms, plastic and capable of living under the most diverse conditions: as free-swimmers in salt and fresh water, as commensals or semi-parasites, or as total ecto- or ento-parasites. In the phylogenetic history of this group, parasitism has certainly been entered upon more than once, so that the various Copepod parasites belong to widely separated sub-divisions of this order. Even in the Harpacticoida, which to the present time have been known only as free-swimmers, a parasitic species, living on the gills of the common land crab of Jamaica, has been described by Professor Charles Wilson ('13). This investigator has discussed the classification of the Copepoda in a most instructive manner (Wilson, Chas. B., '10). In accepting the classification of Sars ('10)[1], he points out the weaknesses of all the previous methods of sub-dividing this order; and shows that, while the first antennae are the most conservative organs, yet neither they, nor the mouthparts, nor the body form, all of which

---

[1]) From Chas. B. Wilson ('10, p. 619), "We have the order Copepoda sub-divided into seven sub-orders: "1. The *Calanoida*, free-living and pelagic; 2. the *Harpacticoida*, also free-living but demersal; 3. the *Cyclopoida*, partly free-living and fresh-water species, partly commensals and messmates with other animals, partly parasitic; 4. the *Notodelphyoida*, semi-parasitic and living upon ascidians and similar animals; 5. the *Monstrilloida*, partly parasitic and partly free; 6. the *Caligoida*, parasitic upon fishes, moderately degenerate and with some freedom of motion; 7. the *Lernaeoida*, fish parasites, strongly degenerate, fixed in position, and with marked sexual dimorphism."

shape themselves to the environment in which the animal is placed can be used as an absolute criterion in classification.

Let us examine, for instance, the discussion over the position of *Hersilia*, which is a typical semi-parasitic form. *Hersilia apodiformis* was first described and named by Philippi in 1839. The new genus, he considered, would fall between the genera *Peltidium* and *Sapphirina*. Later Kossmann ('75) described anew this same animal, giving it the name *Clausidium testudo*, nov. gat., nov. sp., and placing it on account of its body form near *Artotrogus* and *Asterocheres*, genera found on Echinoderms. The latter work called forth a contribution by Claus ('75) against Kossmann's new genus and species and against the association of *Hersilia* (*Clausidium*) with the Asterocheridae, which have sucking mouthparts. Claus maintained that the mouthparts formed the most important character for classification and considered *Hersilia* (which has mouthparts intermediate between those suited for biting and those suited for sucking: small reduced mandibles, and long labrum) as probably originating from the Peltiidae and assuming a form which mingled the characters of the Corycaeidae and Bomolochidae. In 1893 Giesbrecht published a consideration of the systematic standing of the Hersiliidae, a family which had been constructed by Canu, including the genera *Hersilia* (*Clausidium*), *Hersiliodes*, *Giardella* and *Nicothoe*. Giesbrecht objected to Canu's association of this family together with the Nereicolidae into a group separated from the Corycaeidae, Oncaeidae, and Lichomolgidae. He (Giesbrecht '93) held that the Hersiliidae had their nearest relatives in the Oncaeidae on account of the similarity of the first and second antennae, the mandibles and maxillae of these two families.

The foregoing example is probably sufficient to illustrate the diversity of opinions which may arise, as to the importance of various morphological units in taxonomy. Giesbrecht pointed out that, through a study of the ontogeny of parasitic forms, a better idea as to their relationship could often be obtained than from a comparison of adult structures. Pesta ('09) discusses Giesbrecht's suggestion and also considers it to be of greatest taxonomic value to determine in which cyclopid stage the characters of parasitism first appear. As regards the large group of semi-parasites, messmates, commensals and free-swimmers with mouth parts transitional between those adapted for biting and those adapted for sucking, the group to which the Hersiliidae and the Corycaeidae belong, Professor Chas. Wilson ('11b, p. 310) says: "Much more work must be done upon the ecology, morphology, and especially the ontogeny of the various families before any lasting suggestions can be made in the

systematization." In his paper on the development of *Achtheres* (Wilson, Chas. B. '11a), he gives a table for the various groups of parasitic copepods, showing the comparative time in development spent in the egg, as free-swimmers, and as parasites.

The ontogenetic study, especially of those forms which are pelagic during the larval stages, involves great difficulties. It is perhaps not unreasonable to inquire whether or not the cytologist can aid the embryologist and systematist in a solution of the problems presented. Will a comparative study of the chromosomes show such distinctive forms in the various larger groups of the Copepoda, as a study of the Insecta has done? For example, could a cytological study decide whether the degenerate Chondrocanthidae belong in the third group, the Cyclopoida (Sars' classification, footnote on p. 429), with the Corycaeidae and Ergasilidae; or in the seventh group, the Lernaeoida, degenerate fish parasites which the Chondrocanthidae resemble in their adult form?

A definite answer to this question can not at present be given, for, of the seven sub-orders of the Copepods, only three have been studied to any extent, and these only in a few genera. The first sub-order, the *Calanoida*, has been most broadly studied and here there are similarities to be found which are characteristic throughout this group. In the Copepod egg, the average number of chromosomes, the form taken by them in the germinal vesicle at the end of the growth period, and the form in the first maturation spindle will, I believe, offer a basis for comparison; and it is just these facts which are usually obtainable, the stages being of long duration. The structure of the gonads, the form of the "Keimpolster", the size of the germ cells, their spindle and nucleoli may be studied at the same time and aid in comparison. The possibility of such a comparative study presented itself to the author while examining the sexual elements of the most common free-swimming and semi-parasitic Copepods of the Bay at Naples. The chromosomal differences were most striking. The work is at present only a beginning, but it is hoped that in the future a more extended and systematic account with size measurements of the chromosomes and germ cells may be published. The following is a tabulation of the present data on the Copepods, but this data is still too incomplete to warrant definite conclusions; however, judging from the Calanoida, it would seem that a broader study of the other groups, including their most characteristic families, would not be without results.

In the tables the classification of Sars (Footnote 1, p. 429) will be adhered to, and whenever possible the number of chromosomes in the

primary oöcyte (haploid number) will be given, since these counts can be considered most accurate.

[The number of chromosomes is indicated by the numerals following the name of the species, the word "chromosomes" being omitted. Unless otherwise stated, they are tetrads of ordinary form. The authorities upon which the counts are given are designated by the following abbreviations: Braun — B; Chambers — Ch; Haecker — H; Kornhauser — K; Krüger — Kr; Matscheck — M; McClendon — McC; Rückert — R; vom Rath — v. R; Steuer — S.]

I. Calanoida

Calanus gracilis	16	large, in the form of rings, all practically the same size. Before the spindle is formed they are also rings. K.
Euchaeta marina	17	large rings. K.
Diaptomus denticornis .	17	M.
» *salinus* . . .	17	rings which are somewhat flattened in the germinal vesicle.
» *gracilis* . . .	17	M. — 16 R. Rings all of same size.
» *castor*	17	(14+1 composed of 3 rings, potentially 17) M.
laciniatus . .	16	M.
» *coeruleus* . .	14	rings all of same size. M.
» sp ?	8	dumb-bell shaped — a Japanese form described by Ishikawa.
Heterocope weismanni . .	16	rings. R. M.
Anomalocera patersonii .	16	rings of equal size. v. R.

The chief characteristics of this group are that the chromosomes appear usually in the number sixteen or seventeen, that they are large, practically all of the same size, and almost without exception, ring-shaped both in the first maturation spindle and in the germinal vesicle toward the end of the growth period . So far no small chromosome without "Querkerbe" has been described in this group, and the only extraordinary chromosome is the multiple form composed of three tetrads which was found in *Diaptomus castor*. The Japanese *Diaptomus* (species not given) does not conform with the general type of the Calanoida either in the form or in the number of its chromosomes.

II. Harpacticoida.

Canthocamptus staphylinus	12	all practically same size in spindle, in the form of parallel rods, not rings. In germinal vesicle, sometimes in the form of a cross or ring, but generally parallel rods. H., M., Kr.
» *trispinosus* .	11	(2, large; 8, medium; 1, small: all with "Querkerbe". Kr.
Nitocra hibernica	8	small, without evidence of a Querkerbe in spindle. Kr.

In the Harpacticoida, in spite of the numerous marine and fresh-water species (Sars '11), few forms have been studied cytologically, so that it is impossible to state the main characteristics of this group. The average chromosome number of the known forms is ten, whereas that of the preceding group is sixteen. The size differences are more marked than in the Calanoida, and the double rod (characteristic also of Group III) supplants the ring-form tetrad of Group I. A study of the marine Harpactids would doubtlessly give a much better idea of this group, for the only fresh-water species so far studied must be looked upon as a highly specialized species.

III. Cyclopoida.

Cyclops strenuus	11	of equal size, double rods with Querkerbe. B., M.
» *insignis*	11	as in *strenuus*. B., M.
» *dybowskii* . . .	9	of equal size. B., M.
» *bicuspidatus* . .	9	size differences more marked than in previous species — 4 large, 5 smaller. B., M., Ch.
» *fuscus*	7	of equal size. B., M.
» *albidus*.	7	of equal size. B., M.
» *leuckarti*	7	of equal size. B., M.
» *serrulatus* . . .	7	(6 large and 1 pair of small hetero-chromosomes which do not divide in 2nd maturation division). B., M.
» *phaleratus* . . .	7	(6+1 unpaired small hetero-chromosome showing "Querkerbe" — divides only in 2nd maturation division). B., M.
» *viridis*	6	of equal size. B., M.
» *viridis*		
var. *americanus*	5	Ch.
var. *parcus*. .	5	(1 large, 1 medium, 1 small) . Ch.
var. *brevispinosus*	2	Ch.
» *diaphanus* . . .	6	of equal size. B.
» *prasinus*	6	5+1 small unpaired hetero-chromosome without "Querkerbe". B., M.
» *distinctus*. . . .	6	5+1 unpaired hetero-chromosome of medium size. B. Sometimes individuals show 6+1 unpaired hetero-chromosome. M.
» *vernalis*	5	or 5+1 small hetero-chromosome was present in about $^1/_2$ the individuals studied. M.
» *gracilis*.	3	of equal size. B., M.
Hersilia apodiformis . .	12	11+1 smaller pair without "Querkerbe". K.
Lichomolgus forficula . .	10	1 large, 9 medium. Much smaller than in *Hersilia*. No "Querkerbe" could be seen in the oöcytes. K.

Sapphirina sp.	8	The chromosomes were seen only in the spermatogenesis. In the spermatogonia are 16 — in size a graded series from larger to smaller. Though the chromosomes are much smaller than in *Hersilia*, a "Querkerbe" is often plainly visible. In the bouquet stage of the spermatocytes, the presence of a nuclear cap and nucleolus reminds one a great deal of the same stage in *Hersilia*. The maturation divisions also greatly resemble those in *Hersilia*. K.

In the Cyclopoida our data is limited to the genus *Cyclops* and three species belonging to three different families somewhat distantly removed from the Cyclopidae. In this group the chromosome number varies from twelve to two, and the average number is seven. Besides the ditetrads the frequent presence of small paired or unpaired hetero-chromosomes usually without "Querkerbe is notable. In the germinal vesicle and in the first maturation spindle of *Cyclops*, the di-tetrads are in the form of parallel rods; and in the cleavage stages the chromosomes are long, in the form of V's or U's.

Cyclops phaleratus, a form which, in its structure, resembles the genus *Canthocamptus* and is looked upon by Schmeil ('92) as a connecting link between the families Cyclopidae and Harpactidae, is an interesting species. The maturation division has been described by Matscheck ('10), who showed that the form of the chromosomes is more like the other Cyclopidae, but that the manner of forming the polar bodies is exactly like that of the Harpactid, *Canthocamptus*.

Hersilia, *Lichomolgus* and *Sapphirina* must not be looked upon as close relatives of the Cyclopidae. They are all marine forms; the first two, semi-parasitic; and the female of *Sapphirina* is usually found within *Salpa* as a commensal or parasite. *Hersilia* shows certain resemblances to the Cyclopidae; the chromosomes, before entering the spindle of the primary oöcyte, are composed of two parallel rods (Fig. 48, Pl. VI). This form may be kept in the metaphase (Fig. 51; Fig. 50 right hand side), or the pairs may form rings in condensing, resembling those of the Calanids. In the cleavage stages the chromosomes of *Hersilia* are like those of the Cyclopidae, not short and plump like those of the Calanidae, The spermatogenesis of *Sapphirina* is, in a great many respects, like that of *Hersilia*. The similarity in the form of the chromosomes, the presence of a nuclear cap and nucleolus may indicate a relationship between the Hersiliidae and the Corycaeidae.

IV. Notodelphyoida.

Observations in this group are very incomplete. The author has studied the testes of *Notodelphys*, *Notopterophorus*, and *Doropygus*. The structure of the testes and the form of the germinal elements are practically the same in all three. The "Keimpolster" is located within the blind end of the testis itself (as in *Canthocamptus*; HAECKER '95a) and is surrounded by spermatogonia, and these spermatogonia contain an immense nucleolus. The cells are small and the chromosomes of the maturation divisions very difficult to count.

VI. Caligoida.

Pandarus sinuatus . . .	8	of equal size; ring-form; parallel rods before spindle is formed. McC.
Orthagoriscola muricata .	8	like *Pandarus*. McC.
Kröyeria (?) (a Dichelestid)	8	ring shaped. McC.
Mytilicola intestinalis . .	8	in primary spermatocytes. S.

The figures and descriptions of the chromosomes of the types studied in the Caligoida allow of no generalizations. It is, however, worthy of note that the number eight is common to all the forms so far investigated.

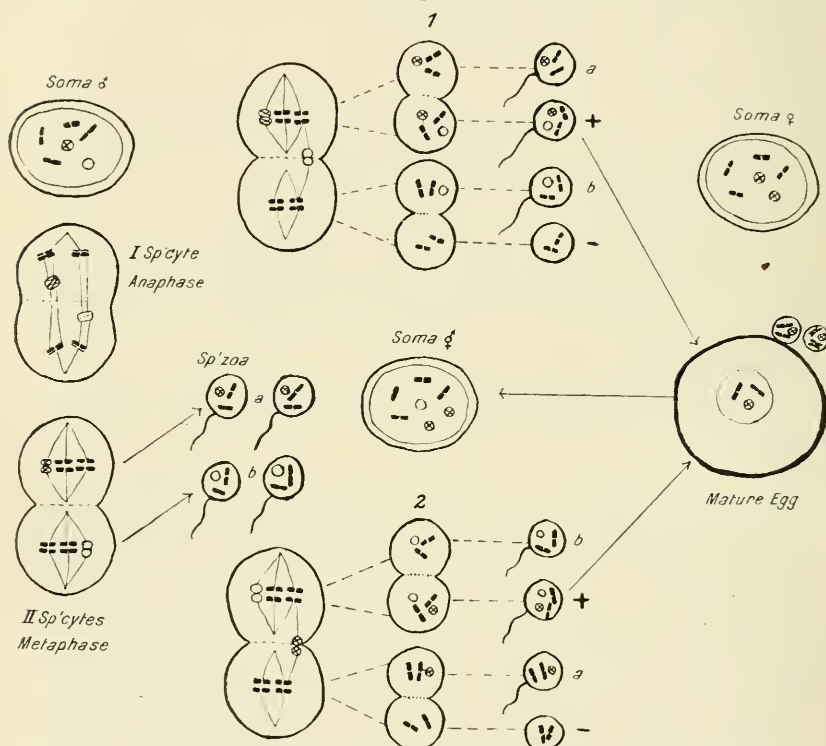
Groups V and VII have not been worked upon from a cytological standpoint.

E. The Hetero-chromosomes and a Case of Hermaphroditism.

On a slide of sections comprising a series of about forty males of *Hersilia apodiformis*, there was one individual cut sagittally which was very striking on account of the structure of the sexglands. Closer examination proved the individual to be hermaphroditic. This, so far as the author has been able to ascertain, is the first case of intermal hermaphroditism found in the Copepods. Unfortunately this specimen was not carefully examined before sectioning, but was included with ordinary males which were always distinguished and separated from the immature females under low-power magnification. Its size is that of an ordinary male, and it possesses the large highly modified second maxillipeds so characteristic of the male (p. 402), and used in holding fast to the female. The sex gland (Fig. 4, Plate IV) is a combination of testis and ovary. There is a "Keimpolster" like that of the testis, and following this are the spermatogonia or oögonia, none of which show stages of active division. Then, in close succession, are typical zygotene bouquet stages with nuclear cap and nucleolus, an anaphase plate of a second spermatocyte mitosis, many spermatids and developing spermatozoa; and, in neighboring

sections, mature spermatozoa with long filamentous tails. The remainder and greater part of the sex gland is composed of typical oöcytes (compare with Fig. 3, Plate IV), which had already grown to a considerable size. Females just previous to the final moult and already much larger than the ordinary males show oöcytes which are not nearly so large as those of this small hermaphrodite.

Textfigure I.



At the left, normal spermatocyte divisions. Above, case 1, in which y-chromosome is cut through. Below, case 2, in which x—chromosome is cut through. Black = autosomes; circle with cross = x-chromosome; plain circle = y-chromosome; *a*, *b*, + — = types of spermatozoa; *I Sp'cytes* = primary spermatocytes; *II Sp'cytes* = secondary spermatocytes; *Sp'zoa* = spermatozoa.

It at once occurred to the author: Could such a hermaphroditic individual be the result of abnormalities in the spermatocyte divisions, such as described on page 419, and shown in Figure 38 (Plate VI)? If, in the first maturation mitosis, one of the lagging hetero-chromosomes, assuming that they are sex chromosomes, should be cut into two parts by the division of the cytoplasm, would there be any irregularities in

the constitution of the resulting spermatozoa? The various possibilities are diagrammatically given in Textfigure *I*. Above, right and left, are represented the somatic chromosomes of the male and female: the allosomes by four (black) chromosomes with "Querkerbe", the hetero-chromosomes by circles. As in the Insecta, the female is assumed to contain two hetero-chromosomes of like composition, i. e. two x-chromosomes (circles with crosses); the male, two hetero-chromosomes of unlike composition, one x-chromosome and one y-chromosome (plain circle).

In the metaphase of the first spermatocyte would be two di-tetrads and two hetero-chromosomes. At the left of Figure *I* is shown the normal first spermatocyte anaphase: the x-chromosome passes to one second spermatocyte, the y-chromosome to the other. A normal metaphase of the two sister second spermatocytes is shown below this. The division of these gives rise to two classes of spermatozoa, those containing an x-chromosome, class *a*, and those with a y-chromosome, class *b*. If, however, as described on page 49, one of the hetero-chromosomes lags behind in the anaphase of the first spermatocyte mitosis, and the line of division of the cytoplasm into second spermatocytes passes through it, it becomes attached to the two metaphase plates of the second spermatocytes. There are two possibilities, since both hetero-chromosomes usually lag (Fig. 31, Plate VI), either that the y-chromosome or that the x-chromosome is halved. The first possibility is represented above (1, Fig. *I*); the second, below (2, Fig. *I*). To the left of the middle line are the metaphase plates of two sister second spermatocytes; in the middle (below the numerals 1 and 2), the telophase stages and the four resulting spermatids. These form four classes of spermatozoa. In both cases 1 and 2 are alike, classes *a* and *b* are normal, while the + class contains two hetero-chromosomes and the — class has no hetero-chromosome. The latter class has little significance as the spermatids would be likely to degenerate, as those without hetero-chromosome in *Rhabditis* (Boveri, '11; Schleip, '11) and *Aphis* (Baehr, '09). It is the + class, with both an x-chromosome and a y-chromosome, which arouses interest. Should such a spermatozoan fertilize a normal egg (right, Fig. *I*), the resulting individual (middle, Fig. *I*) would contain two x-chromosomes and one y-chromosome. Thus it would possess the sex determinants necessary to produce a female (2 x) and those necessary to produce a male (x + y). Considering the y-chromatin as an inhibitor to the production of female characters (the determiners for maleness, being more probably in the autosomes), its presence in the hermaphrodite might account for the fact that only the male secondary sexual characters appear in the soma.

That oöcytes and spermatocytes can be produced from the same unreduced cells (oögonia) of a hermaphrodite has been shown to be true for *Rhabditis*, the distinction being first evident by the difference shown in the behavior of the hetero-chromosomes (Boveri. '11; Schleip, '11). In the spermatocyte divisions of *Rhabditis* an elimination of one of the hetero-chromosomes follows, so that two classes of spermatozoa are formed. In such a hermaphroditic gonad as that of Figure 4, it is likely that there is also a regulation which takes place early in the growth period, if not before this, which decides which cells shall be oöcytes and which spermatocytes. Considering how small a percentage of the immense number of spermatozoa produced ever come to active fertilization, there is but little chance of finding an individual which had been produced by the union of a spermatozoa of the + class (Fig. *1*) with an egg. It is therefore not remarkable that only one hermaphrodite was found among the eight thousand (6000 ♂: 2000 ♀) specimens which were sectioned.

X. Summary.

1. In the testes of *Hersilia* the regular sequence from the spermatogonia to the spermatozoa make a perfect seriation of the stages possible. The ovaries, up to the "confused stage" in the oöcytes, show the same seriation.

2. There is a medium unpaired "Keimpolster" in both sexes. It is separated from the gonad proper by a membrane. The cells of the "Keimpolster" are of an entirely different character than the spermatogonia or oögonia, and neither in immature individuals nor in adults is there any evidence that the "Keimp olster" gives rise to the germ cells. It is more probably a nutritive organ.

3. In the spermatogonia and oögonia there are twenty-four chromosomes. Twenty-two show a "Querkerbe"; two are without this structure. The "Querkerbe" is not across the middle in at least two pairs of chromosomes. The prophase chromosomes do not arise from the segmentation of a spireme, nor do the telophase chromosomes unite to form a spireme. In the quiescent spermatogonium there are usually two nucleoli, and on the nuclear membrane in the cytoplasm are disks which stain similar to the nucleoli. These have been named the "cyto-plasmosomes".

4. The leptotene threads arise separately from the network following the ultimate spermatogonial division. There is at no time a spireme formed which segments into these threads. The leptotene

threads assume a regular polar arrangement, the leptotene bouquet. Optical sections show that the loops are most probably present in unreduced number.

5. There is a period of conjugation. It is characterized by the side-by-side union of the threads in pairs. During this period the polar orientation of the loops is partially lost. The fusion of the nucleoli and the union of the "cyto-plasmosomes" to form a "nuclear cap" occur in the transitional period.

6. The zygotene bouquet follows the period of conjugation. There is again a definite polar orientation of the chromatin loops, which are double and present in reduced number. The large "nuclear cap", with the nucleolus lying usually below it in the nucleus, is characteristic of this stage.

7. *Hersilia* has no "confused stage" in the spermatocytes, the zygotene threads being always visible. At the end of the bouquet stage they lose their polar orientation and open out along the plane of conjugation. The nucleolus gradually diminishes in size and disappears. The "nuclear cap" contracts to a hollow sphere; and, in the dividing spermatocytes, the only traces of it are small, deeply staining fragments in the cytoplasm.

8. In the spermatocytes long rods, short rods, ring- and cross-shaped tetrads are formed. In the oöcytes are either rings or double parallel rods. The primary oöcyte metaphase shows twelve tetrads: eleven with "Querkerbe" (in at least two, asymmetrically placed), and one small tetrad without "Querkerbe". In the first spermatocyte spindle thirteen chromosomes are to be counted in about three-fourths of the cases; the others show twelve. This variation arises from the pairing or non-pairing of two hetero-chromosomes.

9. In the first spermatocyte mitosis the chromosomes separate reductionally, whole chromosomes with "Querkerbe" passing to the poles. The two hetero-chromosomes lag, but normally one goes to each second spermatocyte. In exceptional cases one may be halved by the division of the cytoplasm into sister cells. Such distribution of the chromosomes, as this would occasion, might account for rare cases of hermaphroditism in *Hersilia*.

10. In the interkinetic period the longitudinally split chromosomes assume the forms of X's, Y's, or V's.

11. In the second spermatocyte metaphase the longitudinally divided chromosomes lie with their long axes in the equator. Twelve chromo-

somes are present; eleven show a definite "Querkerbe". The chromosomes separate reductionally; and in each second spermatocyte is a lagging chromosome which is one of the larger individuals. Half of this passes to each spermatid and lies at one side of the fused telophase chromosomes. It is later included in the spermatid nucleus.

12. In the cleavage cells and in the cells of the blastulae are twenty-four chromosomes, usually in the form of V's. The primordial germ cells of the blastulae also have twenty-four chromosomes, the majority of which show a definite "Querkerbe".

Bibliography.

AGAR, W. E. 1911. The Spermatogenesis of Lepidosiren paradoxa. Quart. Journ. Micr. Sci. N. S. Nr. 225. Vol. LVII. Part 1. p. 1—44. pl. I—V. 1 textfig.

—— 1912. Transverse Segmentation and Internal Differentiation of Chromosomes. Quart. Journ. Micr. Sci. N. S. Nr. 230. Vol. LVIII. Part. 2. p. 285 to 298. pl. XII. XIII.

AMMA, K. 1911. Über die Differenzierung der Keimbahnzellen bei den Copepoden. Arch. f. Zellf. Bd. VI. Hft. 4. S. 497—576. Taf. XXVII—XXX. 25 Textfiguren.

APÁTHY, S. 1912. Neuere Beiträge zur Schneidetechnik. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd XXIX. S. 449—515. 4 Textfiguren.

BAEHR, W. B. VON. 1909. Die Oogenese bei einigen viviparen Aphididen und die Spermatogenese von Aphis saliceti, mit besonderer Berücksichtigung der Chromatinverhältnisse. Arch. f. Zellf. Bd. III. S. 269—333. Taf. XII—XV.

BALTZER, F. 1910. Über die Beziehung zwischen dem Chromatin und der Entwicklung und Vererbungsrichtung bei Echinodermenbastarden. Arch. f. Zellf. Bd. V. Hft. 4. S. 497—621. 5 Tafeln. 19 Textfiguren.

—— 1913. Über die Chromosomen der Tachea (Helix) hortensis, Tachea austriaca und der sogenannten einseitigen Bastarde T. hortensis × T. austriaca. Arch. f. Zellf. Bd. XI. Hft. 2. S. 151—168. Taf. VI. 1 Textfigur.

BORING, ALICE M. 1907. A Study of the Spermatogenesis of Twenty-two Species of the Membracidae, Jassidae, Cercopidae and Fulgoridae. Journ. Exp. Zoöl. Vol. IV. Nr. 4. p. 469—512. 9 plates.

—— 1913. The Chromosomes of the Cercopidae. Biol. Bull. Vol. XXIV. Nr. 3. p. 133—139. 4 plates.

BOVERI, TH. 1911. Über das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Hermaphroditismus. Beobachtungen an Rhabditis nigrovenosa. Verhandl. phys.-med. Gesell. Würzburg. N. F. Bd. XLI. Nr. 5. S. 83—97. 19 Figuren.

BRAUN, H. 1909. Die spezifischen Chromosomenzahlen der einheimischen Arten der Gattung Cyclops. Arch. f. Zellf. Bd. III. Hft. 3. S. 448—482. Taf. XXIV bis XXV. 2 Textfiguren.

BROWNE, ETHEL N. 1913. A Study of the Male Germ Cells in Notonecta. Journ. Exp. Zoöl. Vol. XIV. No. 1. p. 62—102. pl. I—X.

Buchner, P. 1910. Von den Beziehungen zwischen Centriol und Bukettstadium. Arch. f. Zellf. Bd. V. Hft. 2. S. 215—228. 23 Textfiguren.

Chambers, R. 1912a. Egg Maturation, Chromosomes, and Spermatogenesis in Cyclops. Univ. Toronto Studies. No. 14. p. 1—37. plates I—III. 3 textfigs.

—— 1912b. A Discussion of Cyclops viridis Jurine. Biol. Bull. Vol. XXII. p. 291 to 296. 2 textfigs.

Claus, C. 1875. Neue Beiträge zur Kenntnis parasitischer Copepoden nebst Bemerkungen über das System derselben. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XXV. S. 327—360. Taf. XXII—XXIV.

Federley, H. 1913. Das Verhalten der Chromosomen bei der Spermatogenese der Schmetterlinge Pygaera anchoreta, curtula und pigra, sowie einiger ihrer Bastarde. Zeitschr f. indukt. Abstamm.- u. Vererb. Bd. IX. Hft. 1. S. 1 bis 110. Taf. I—IV.

—— 1914. Ein Beitrag zur Kenntnis der Spermatogenese bei Mischlingen zwischen Eltern verschiedener systematischer Verwandtschaft. Öfversigt af Finska Vetenskaps-Societetens Forhandlingar. Bd. LVI. 1913—1914. Afd. A. N.: 013. 28 Seiten. 12 Textfiguren.

Giesbrecht, W. 1893. Mitteilungen über Copepoden. Nr. 4. Über die »Paragnathen« der Copepoden und die systematische Stellung der Hersiliiden. Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. XI. Hft. 1. S. 75—79.

Gross, J. 1906. Die Spermatogenese von Pyrrhocoris apterus L. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. Bd. XXIII. Hft. 2. S. 269—336. Taf. XIX—XX. 4 Textfig.

Haecker, V. 1895a. Die Vorstadien der Eireifung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLV. S. 200—273. Taf. XIV—XVII.

—— 1895b. Über die Selbständigkeit der väterlichen und mütterlichen Kernbestandteile während der Embryonalentwicklung von Cyclops. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVI. S. 579—618. Taf. XXVIII—XXX.

—— 1902. Über das Schicksal der elterlichen und großelterlichen Kernanteile. Jena. Zeitschr. Naturwiss. Bd. XXXVII. N. F. 30. S. 279—398. 4 Tafeln. 16 Textfiguren.

—— 1904. Bastardierung und Geschlechtszellenbildung. Ein kritisches Referat. Zool. Jahrb., Suppl. VII. (Festschr. z. 70. Geburtstag Weismanns). S. 161 bis 260. 1 Tafel. 13 Textfig.

—— 1907. Die Chromosomen als angenommene Vererbungsträger. Ergeb. u. Fort. Zool. (Spengel). Bd. I. Hft. 1. S. 1—133. 43 Textfig.

—— 1910. Ergebnisse und Ausblicke in der Keimzellenforschung. Zeitschr. f. indukt. Abstamm.- u. Vererb. Bd. III. Hft. 3. S. 181—200. 5 Textfiguren.

—— 1911. Allgemeine Vererbungslehre. Braunschweig 1911. Bd. X. 392 Seiten. 4 Tafeln. 135 Textfiguren.

Ishikawa, C. 1891. Studies of Reproductive Elements I. Spermatogenesis, Oögenesis and Fertilization in Diaptomus sp. Journ. College Sci., Imp. Univ., Japan. Vol. V. Pt. 1. p. 1—34. 1 plate.

Kornhauser, S. I. 1914. A Comparative Study of the Chromosomes in the Spermatogenesis of Enchenopa binotata (Say) and Enchenopa (Campylenchia Stål) curvata (Fabr.). Arch. f. Zellf. Bd. XII. Hft. 2. p. 241—298. pl. XVIII to XXII. 7 textfigs.

Kossmann, R. 1875. Über Clausidium testudo, einen neuen Copepoden, nebst Bemerkungen über das System der halbparasitischen Copepoden. Verhandl. phys.-med. Gesell. Würzburg. N.. F. Bd. VII. Nr. 1. Taf. VII.

Krimmel, Ottilie. 1910. Chromosomenverhältnisse in generativen und somatischen Mitosen bei Diaptomus coeruleus, nebst Bemerkungen über die Entwicklung der Geschlechtsorgane. Zool. Anz. Bd. XXXV. S. 778—793. 16 Textfig.

Krüger, P. 1911. Beiträge zur Kenntnis der Oogenese bei Harpacticiden nebst biologischen Beobachtungen. Arch. f. Zellf. Bd. VI. Hft. 2. S. 165—189. Taf. VII—IX. 1 Textfigur.

Lerat, P. 1905. Les phénomènes de maturation dans l'ovogénèse et la spermatogénèse du Cyclops strenuus. La Cellule. Tom. XXII. p. 160—199. 2 pl.

Marcus, H. 1906. Ei und Samenreife bei Ascaris canis (Werner) (Asc. mystax). Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVIII. S. 441—491. Taf. XXIX—XXX. 10 Textfiguren.

Matscheck, H. 1910. Über Eireifung und Eiablage bei Copepoden. Arch. f. Zellf. Bd. V. Hft. 1. S. 36—119. Taf. IV—VIII. 30 Textfiguren.

McClendon, J. F. 1906. On the Development of the Parasitic Copepods. Part I. Biol. Bull. Vol. XII. Nr. 1. p. 37—50. 1 plate. 3 textfigs.

—— 1910. Further Studies on the Gametogenesis of Pandarus sinuatus, Say. Arch. f. Zellf. Bd. V. Hft. 2. S. 229—234. 1 Tafel. 1 Textfigur.

McClung, C. E. 1908. Cytology and Taxonomy. Kans. Univ. Sci. Bull. Vol. IV. No. 7. Sept. 1908.

Moroff, T. 1909. Oogenetische Studien I. Copepoden. Arch. f. Zellf. Bd. II. Hft. 3. S. 432—493. Taf. XXXIV—XXXVI.

Pesta, O. 1909. Bemerkungen zum Ausbau des Systems der parasitischen Copepoden. Zool. Anz. Bd. XXXIV. Nr. 5. S. 151—153.

Rath, O. vom. 1892. Zur Kenntnis der Spermatogenese von Gryllotalpa vulgaris (Latr.). Arch. f. mikr. Anat. Bd. XL. S. 102—132. Taf. V.

—— 1893. Beiträge zur Kenntnis der Spermatogenese von Salamandra maculosa. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LVII. S. 97—185. Taf. VII—IX.

—— 1895. Neue Beiträge zur Frage der Chromatinreduktion in der Samen- und Eireife. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVI. S. 168—238. Taf. VI—VIII.

Rückert, J. 1894a. Zur Eireifung bei Copepoden. Anat. Hefte. I. Abt. Hft. 12 (Bd. IV, Hft. 2). S. 163—351. Taf. XXI—XXV. 39 Textfiguren.

—— 1894b. Die Chromatinreduktion bei der Reifung der Sexualzellen. Ergeb. Anat. und Entwickl. Bd. III. S. 517—583. 7 Textfiguren.

Sars, G. O. An Account of the Crustacea of Norway. Bergen. 1903. Vol. IV. Calanoida. 171 pages. 108 plates. — 1911. Vol. V. Harpacticoida. 449 pages. 284 plates.

Schiller, I. 1909. Über künstliche Erzeugung »primitiver« Kernteilungsformen bei Cyclops. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. XXVII. S. 560—609. 62 Textfiguren.

Schleip, W. 1911. Das Verhalten des Chromatins bei Angiostomum (Rhabdonema) nigrovenosum. Ein Beitrag zur Kenntnis der Beziehungen zwischen Chromatin und Geschlechtsbestimmung. Arch. f. Zellf. Bd. VII. Hft. 1. S. 87—138. Taf. IV—VIII.

Schmeil, O. 1892. Deutschlands freilebende Süßwassercopepoden. I. Teil: Cyclopidae. Bibliotheca Zoologica. Hft. 11. 188 Seiten. 8 Tafeln. 3 Textfig.

Schreiner, A. und K. E. 1906a. Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. I. Die Reifung der männlichen Geschlechtszellen von Tomopteris onisciformis, Escholtz. Arch. de Biol. Tom. XXII. Fasc. 1. p. 1—69. kl. I—III. 1 figure d. l. text.

—— 1906b. Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. II. Die Reifung der männlichen Geschlechtszellen von Salamandra maculosa (Laur.), Spinax niger (Bonap.) und Myxine glutinosa (L.). Arch. de Biol. Tom. XXII. Fasc. 3—4. p. 419—492. pl. XXIII—XXVI.

Steuer, A. 1903. Mytilicola intestinalis n. gen. n. sp. Arb. Zool. Inst. Wien. Bd. XV. Hft. 1. 46 Seiten. 5 Tafeln.

Stevens, Nettie M. 1906. Studies in Spermatogenesis. Part II. Carnegie Instn. Washington. Publ. No. 36. Part 2. p. 33—74. plates VIII—XV.

—— 1908. A Study of the Germ Cells of Certain Diptera, with Reference to the Heterochromosomes and the Phenomena of Synapsis. Journ. Exp. Zoöl. Vol. V. No. 3. p. 359—374. 4 plates.

—— 1919. Further Studies on the Chromosomes of the Coleoptera. Journ. Exp. Zoöl. Vol. VI. No. 1. p. 101—113. 4 plates.

Wilson, Chas. B. 1910. The Classification of the Copepods. Zool. Anz. Bd. XXXV. Nr. 20. S. 609—620.

—— 1911a. North American Parasitic Copepods. Part. 9. The Lernaeopodidae. (Development of Achthrees amblоplitis Kellicott.) Proc. U. S. Nat. Mus. No. 1783. Vol. XXXIX. p. 189—226. pl. XXIX—XXXVI.

—— 1911b. North American Parasitic Copepods Belonging to the Family Ergasilidae. Proc. U. S. Nat. Mus. No. 1788. Vol. XXXIX. p. 263—400. pl. XLI to LX. 37 textfigures.

—— 1913. Crutacean Parasites of West Indian Fishes and Land Crabs, with Descriptions of New Genera and Species. Proc. U. S. Nat. Mus. No. 1950. Vol. XLIV. p. 189—277. pl. XVIII—LIII.

Wilson, E. B. 1907. Differences in the Chromosome Groups of Closely Related Species and Varieties, and Their Possible Bearing on the "Physiological Species". Proc. 7th Int. Zoöl. Congr. Boston. 2 pages.

—— 1911. Studies on Chromosomes. VII. A Review of the Chromosomes of Nezara; with some more General Considerations. Journ. Morph. Vol. XXII. Nr. 1. p. 71—110. 1 plate. 9 textfigs.

—— 1912. Studies on Chromosomes VIII. Observations on the Maturation Phenomena in Certain Hemiptera and other Forms, with Considerations on Synapsis and Reduction. Journ. Exp. Zoöl. Vol. XIII. No. 3. p. 345—431. 9 pl.

Zarnik, B. 1911. Über den Chromosomencyclus bei Pteropoden. Verhandl. Deutsch. Zool. Gesell. 1911. S. 205—215. 10 Textfiguren.

Explanation of Plates.

All figures are of *Hersilia apodiformis* and were made with the aid of a camera lucida. The figures of Plate I were made at a magnification of 850 diameters and not reduced: Zeiss apochromatic objective 1,5 mm, compensating ocular No. 2, projection distance 295 mm. In the figures of Plates II—III. with the exception of figure 53, the combination used was Zeiss apochromatic objective 1,5 mm and compensating ocular No. 12, the projection distance 440 mm. Magnification 3500 diameters subsequently reduced $^1/_5$.

Abbreviations.

b'qt. = bouquet stage;
cg. = conjugating pair;
cpl. = cytoplasmasomes;
h. = heterochromosome;
kp. = Keimpolster;
n.c. = nuclear cap;
nll. = nucleolus;
o'ct. = oöcyte;
r. = ring-form pair of chromosomes;
s. = single chromosome without "Querkerbe";
2*nd mat.* = second maturation division;
sp'g = spermatogonia;
sp't = spermatid;
sp'z = spermatozoa;
ug. = primordial germ cell.

Plate IV.

Fig. 1. Longitudinal section of testis and "Keimpolster". *a*—*g*, region corresponding to that shown in Plate X, Fig. 12.

Fig. 2. Longitudinal section of ovary of immature female such as represented in textfigure C. page 405.

Fig. 3. Longitudinal section of portion of mature ovary, extending from the bend to the uterine processes.

Fig. 4. Longitudinal section of hermaphroditic sex-gland and "Keimpolster".

Plate V.

Figs. 5—11. Spermatogonia.

Fig. 5. Quiescent spermatogonium.

Figs. 6—7. Prophases of spermatogonial mitoses.

Fig. 8. Metaphase equatorial plate, spermatogonium.

Fig. 9. Anaphase spermatogonial division.

Fig. 10. Telophase spermatogonial division, showing only one of the sister cells.

Fig. 11. Reconstruction of nucleus after spermatogonial division. Only one of the sister cells figured.

Figs. 12—28. Spermatocytes.

Fig. 12. Stages in the growth period of the spermatocytes. *a*—*c*, formation of leptotene threads; *d*, early leptotene; *e*, leptotene bouquet; *f*, *f'*, conjugation stages; *g*, zygotene bouquet stage.

Fig. 13. Optical section of leptotene stage viewed from positive pole.

Figs. 14 and 15. Cells showing the conjugation of leptotene threads.

Fig. 16. Optical section of cell, showing conjugation, viewed from positive pole.

Fig. 17. Zygotene bouquet stage in lateral view.

Fig. 18. Optical section of zygotene bouquet stage, polar view.

Figs. 19—21. Strepsistene stage showing various methods of separation of the conjugants.

Fig. 22. Cell showing condensation and thickening of strepsistene threads to form di-tetrads.

Fig. 23. Types of di-tetrads found in early prophase of first spermatocyte.

Figs. 24*a* and 24*b*. Two sections of a single cell. Early prophase of first spermatocyte division. Ring di-tetrad prevailing form.

Fig. 25. Types of di-tetrads in late prophase or in metaphase of first spermatocytes.

Figs. 26*a* and 26*b*. Two sections of a cell in late prophase.

Fig. 27. Metaphase plate of first spermatocyte, prevailing type with 13 chromosomes.

Fig. 28. Stage corresponding to Fig. 27, but of less frequent occurrence with 12 chromosomes.

Plate VI.

Figs. 29—43. Spermatocytes and Spermatids.

Fig. 29. Lateral view metaphase, first spermatocyte.

Fig. 30. Lateral view early anaphase.

Fig. 31. Lateral view late anaphase, showing the lagging heterochromosomes, *h. h.*

Fig. 22. Lateral view, stage slightly later than that of Fig. 31. Passing of the heterochromosomes to the sister plates.

Figs. 33*a* and 33*b*. Two sections of a single second spermatocyte in the interkinetic phase.

Fig. 34. Types of chromosomes from a single nucleus of the interkinetic stage.

Fig. 35. Metaphase equatorial plate, second spermatocyte. Eleven chromosomes with "Querkerbe", one single.

Fig. 36. Metaphase second spermatocyte, lateral view.

Fig. 37. Metaphase plates of two sister spermatocytes, with spindles lying parallel in the undivided cytoplasmic mass of the primary spermatocyte.

Fig. 38. One of the exceptional cases in which a lagging chromosome of the first spermatocyte is included between the sister second spermatocytes, here seen in metaphase.

Fig. 39. Anaphase, two sister second spermatocytes showing lagging heterochromosome.

Fig. 40. Late anaphase of second spermatocyte.

Fig. 41. Spermatid showing heterochromosome lying separate from the autosomes.

Figs. 42 and 43. Spermatids showing the inclusion of the heterochromosome into the nucleus.

Fig. 44. Oögonia metaphase equatorial plate, showing 24 chromosomes.

Fig. 45. Oöcyte, leptotene stage.

Fig. 46. Oöcyte, showing conjugation of chromosomes.

Fig. 47. Oöcyte in bouquet stage.

Fig. 48. Form of tetrad just previous to the formation of the primary oöcyte spindle.

Fig. 49. Metaphase equatorial plate of primary oöcyte.

Fig. 50. Same as Fig. 49, in lateral view.

Fig. 51. Chromosome of primary oöcyte spindle stained with crystal-violet-alizarin after Flemming fixation.

Fig. 52. Metaphase equatorial plate of third cleavage of egg.

Fig. 53. Section of blastula passing through primordial germ cells. × 520.

Fig. 54. Nucleus of primordial germ cells from blastula, such as shown in Fig. 53.

Ricerche sulla fine struttura dell' epidermide umana normale in rapporto alla sua funzione eleidocheratinica.

Nota II. Lo strato granuloso e la funzione cheratojalinica.

Per il

Dott. **Leonardo Martinotti,** aiuto e libero docente.

(Clinica dermatologica della R. Università di Modena. Dirett. Prof. P. Colombini.)

Con tavola XXX.

Lo strato granuloso (Unna) o cheratogeno (Ranvier). fu veduto da Aufhammer, poi da Kölliker, confuso do Oehl e Schrön collo strato lucido, e accuratamente studiato da Langerhans.

Si compone di un numero vario di ordini di cellule, non però maggiore di 4—5. Su sezioni non colorate appare in forma di una striscia bianca, perlacea o rifrangente, a limiti quasi paralleli e leggermente ondulati.

Gli elementi che lo compongono hanno una forma losangica, a grande asse parallelo alla superficie cutanea, disposti ad embrice l'uno sull' altro. Si ammette generalmente che il nucleo subisca dapprima un raggrinzamento, poi una specie di omogeneizzazione; che dalla dissoluzione della cromatina si formi un corpuscolo compatto lenticolare, addossato ad un lato e circondato da una debole membranella.

Caratteristica è la presenza entro al corpo cellulare di una particolare sostanza che fu vista da Aufhammer, descritta da Recklinghausen e poi accuratamente studiata da Waldeyer e da Ranvier.

Essa appare in forma di granulazioni, o di sfere, o di gocce più o meno regolarmente rotondeggianti o talvolta angolose, fortemente rifrangenti che molto spesso si accumulano ai due poli del nucleo.

Secondo gli studi di Unna non annerisce all' acido osmico, si colora sopratutto con certe sostanze basiche (fucsina, emateina, safranina, bleu

di metilene, violetto di genziana), come anche con alcune sostanze acide (rosso congo, fucsina acida, Wasserblau).

Secondo RABL annerisce coll' ac. osmico, si tinge col Sudan III, non si scioglie in acqua, alcool, etere, si scioglie invece nelle basi forti (KOH, NaOH), e negli acidi forti (HCl, HNO_3), e nei liquidi digerenti.

Secondo RABL consta verosimilmente di sostante proteiche.

RANVIER (1879) chiamò eleidina la sostanza costituente queste gocce per l'analogia fisica che essa presenta cogli olii. WALDEYER (in analogia forse alla jalina di RECKLINGHAUSEN la denominò Cheratojalina. Più tardi la scuola di UNNA accettò tale denominazione e invece riservò il nome di eleidina alla sostanza dello strato lucido. RANVIER dal canto suo distinse la »éleidine en graines« dello strato granuloso dall' »éleidine en flaques« dello strato lucido. BUZZI, RANVIER e molti altri ritennero che quest' ultima fosse un prodotto di trasformazione evolutiva della prima. RANVIER anzi sarebbe riuscito con una soluzione di cloruro di sodico al 10% a trasformare la eleidina granulosa in eleidina diffusa.

Pochi autori, di cui alcuni recenti, e sopratutto francesi, indicano promiscuamente col nome di eleidina la sostanza del lucido e del granuloso; la maggior parte seguono invece la opinione di UNNA, dimostrata poi vera dalle ricerche di BUZZI e di DREYSEL e OPPLER, per cui la cheratojalina e l'eleidina sono considerate come sostanze differenti almeno morfologicamente.

Io pure, anche per evitare confusioni (che si vedono purtroppo anche in trattati recenti), riserverò il nome di cheratojalina alla sostanza del granuloso, di eleidina a quella del lucido.

Lo studio dello strato granuloso e della sostanza che esso racchiude, si connette con due principali questioni: l'origine della cheratojalina, e il comportamento in questo strato delle fibrille che abbiamo testè veduto nel corpo malpighiano.

A queste due si connette secondariamente quella della natura e l'ufficio della cheratojalina.

α) Riguardo alla prima questione esistono tre opinioni principali:

a) La cheratojalina è di origine nucleare e proviene da un disfacimento del nucleo in toto oppure solamente di alcune porzioni di esso (MERTSCHING, POSNER, SELHORST, LAFFONT, ERNST, D'URSO, TETTENHAMMER).

MERTSCHING paragona la produzione cheratojalinica a quella del pigmento, sostanze tra di loro analoghe e entrambe di origine nucleare. Egli ammette poi la esistenza di diverse cheratojaline.

ERNST, D'URSO e TETTENHAMMER ritengono che la cheratojalina si origini in maniera particolare dalla cromatina nucleare.

b) La cheratojalina è di origine protoplasmatica pura (Apolant, Weidenreich, Kromayer, Renaut).

Secondo Apolant e Weidenreich essa si costituirebbe a spese della sostanza interfibrillare; sopratutto attorno al nucleo.

Renaut ritiene che alla formazione della cheratojalina prendano parte solo parzialmente i filamenti unitivi.

Secondo Kromayer:

1. Il reticolo fibrillare epiteliale si distrugge a livello del granuloso.
2. La cheratojalina è il prodotto di tale disfacimento.
3. La cheratojalina è l'espressione della necrobiosi delle cellule epiteliali.

c) La cheratojalina proviene dal protoplasma e dal nucleo (Rabl, Rosenstadt, Unna).

β) La questione stessa dell' origine della cheratojalina, tocca già almeno in parte l'altra della persistenza o meno delle fibrille a livello dello strato granuloso:

a) Secondo Renaut, Kromayer, Darier le cellule del granuloso non posseggono più fibrille.

b) Secondo Rabl, Unna, Migliorini, Branca, Anitschoff, Tischutkin le fibrille sussistono ancora.

Migliorini ritiene che la cheratojalina tenda a disporsi verso la parte più centrale della cellula. Anitschoff e Tischutkin avrebbero veduto le gocce di cheratojalina disporsi lungo le fibrille stesse. Ranvier ritiene che all' atto della formazione dell' eleidina le fibrille siano ricacciate alla periferia dove vanno a costituire una membrana che per l'appunto proviene dal condensamento delle fibrille stesse.

γ) Sulla natura e sull' ufficio della cheratojalina si è molto discusso: mentre alcuni (Kölliker, Apolant, Unna, Cajal, Kromayer, Pavloff) gli assegnano un' importanza secondaria nel processo della corneificazione, altri (Ranvier, Waldeyer, Zabludowski, Zander, Reinke, Selhorst, Weidenreich, Bizzozero) gli conferiscono un' importanza capitale.

Unna ritiene che la produzione cheratojalinica costituisca un fenomeno concomitante accessorio al processo di cheratinizzazione della cute. Riguardo alle sue affinità tintoriali essa starebbe fra la jalina e la cromatina nucleare.

Rabl pensa che essa sia il prodotto metabolico tanto del nucleo quanto del protoplasma, ma che primitivamente la sostanza madre della cheratojalina risieda nel nucleo e che solo di rado si trasformi in luogo in

cheratojalina, di regola passi invece allo stato di sostanza incolora nel corpo protoplasmatico, dove si manifesta allo stato granulare.

Rosenstadt paragona le gocce di cheratojalina ai granuli di Altmann. La considera come un prodotto del ricambio cellulare, e insiste sulla sua differenza dal pigmento (quindi all' opposto di Mertsching).

Zabludowsky, Zander ritengono che la cheratojalina sia nè più nè meno che una cheratina.

Reinke, Blaschko considerano la cheratojalina come un prestadio della cheratina; (procheratina di Reinke).

Pavloff e Lazansky avrebbero notato che pur potendosi effettuare la cheratinizzazione senza la cheratojalina (come si osserva di regola nelle unghie, nei capelli, nella cute di embrioni, ecc.), tuttavia là dove essa compare, il processo di cheratinizzazione è più rapido e più intenso.

Bizzozero nel processo di rigenerazione del corneo avrebbe veduto comparire prima la cheratojalina, poi l'eleidina, poi la cheratina.

Come si vede, per quanto ben nota e ormai indiscussa sia la struttura dello strato granuloso, pur tuttavia rimangono ancora questioni aperte: la natura, l'ufficio, l'origine della cheratojalina da un lato, il comportamento delle fibrille dall' altro e infine la questione delle membrane del granuloso sono tutti argomenti che necessitano nuovi studi per essere definitivamente svolti e stabiliti.

Sono stati indicati metodi particolari per la ricerca della cheratojalina.

Unna raccomanda i suoi metodi al bleu policromo, nonchè la colorazione con ematossilina e il differenziamento mediante soluzione debolissima di permanganato di potassio e sol. concentrata di prussiato giallo.

Fick preconizza il Chresylechtvioletto; Sorrentino raccomanda di fare agire l'ac. picrosolforico che rigonfia e distrugge gli elementi, e in tal maniera le gocce di cheratojalina sono assai meglio visibili.

La tecnica per la dimostrazione della cheratojalina non richiede indicazioni particolari: è noto come essa si possa mettere in evidenza nei pezzi fissati nei liquidi comuni. Per queste ricerche fondamentali mi sono servito anche qui della fissazione in formolo, e sezioni fatte al congelatore.

Per la colorazione, ricorderò che essa si tinge bene coi colori basici e con alcuni acidi; oltre alle sostanze ben note e già in uso ricorderò l' Echtrot, la Coccinina, il Blauschwarz B, il Diamantschwarz, il Saurealizarinschwarz, R e SE il Biebricher Patentschwarz (marche 4NA e BO), il Brillantschwarz, la Orseillin BB; il Saurebraun, il Naphtolrot, il Benzoscharlach, l'Alizarinschwarz, l'Alizarincyanin, l'Alizarinbordeaux, il

Saurebraun, la Benzoazzurrina, l'Alizarin S, il Bleu di antracene, il Trypanrot, l'Echtschwarz B, il Naphtylaminrot, il Diaminblau 2B ecc. ecc.

Serve inoltre bene il metodo Gram, meno bene il WEIGERT.

Per studiare accuratamente la cheratojalina raccomando i metodi seguenti:

I. Metodo Gram.
1. Colorazione con litiocarminio[1]).
2. Alcool Acido (con 1% di HCl).
3. Acqua distillata.
4. Metodo Gram (meno bene il WEIGERT).
5. Benzolo-Xilolo Balsamo.
Nuclei rossi.
Cheratojalina violetta.

II. Metodo all' indazina.
1. Colorazione con Litiocarminio 3'—5'.
2. Differenziamento accurato in alcool acido.
3. Acqua distillata.
4. Soluzione acquosa di Indazina[2]) 1% 5'—10'.
5. Breve lavaggio in acqua distillata.
6. Immersione per 60'' in soluzione acquosa satura di acido picrico.
7. Differenziamento in alcool assoluto (controllando!).
8. Alcool assoluto; benzolo; xilolo; balsamo.
Nuclei rossi.
Cheratojalina azzurra o azzurro verdastro; lucido verdastro.
Se in luogo dell' acido picrico si usa acido picraminico la decolorazione è meno intensa, ma anche meno netta.

III. Metodo al Tannin heliotrop (o Clematin, o Rosanilinbase).
1. Colorazione con ematossilina ferrica[3]) 2'—3'.
2. Differenziamento in alcool cloridrico.
3. Acqua potabile.
4. Colorazione in soluzione di Tannin-Heliotrop oppure Clematin in acqua distillata all' 1%, oppure Rosanilinbase acetonica 1% per 3'—5'[4]).

---

1) Carminio puro (GRÜBLER o MERCK o SCHUCHARDT) gr. 5; Acqua satura di carb. di litio cc. 100.

2) È una dimetilfenomauveina (monofenilmonoamidodimetilindulina).

3) V. Nota I. Il corpo malpighiano e la funzione fibrillare, in questo giornale, XII, pag. 467.

4) Il Tannin, Heliotrop è una dimetilxiloilosafranina, la Clematin è una dimetiltolusafranina. I preparati colorati con questi due reattivi resistono discretamente, malgrado l'azione decolorante dell'acido picrico; la Rosanilinbase se ne va invece prestissimo.

5. Lavaggio in acqua distillata.
6. Soluz. acquosa satura di acido picrico 1′—2′.
7. Alcool assoluto; differenziamento sotto controllo.
8. Alcool assoluto, benzolo, xilolo, balsamo.
Nuclei bruni, fondo giallo.
La cheratojalina e il lucido sono rosso ciliegia.

IV. Methodo all Amethystviolett.
1—3. Colorazione con litiocarminio come in II°.
2. Colorazione con soluzione di Amethystviolett (tetrametilsafranina) in acqua all' 1% 1′—5′.
3. Acqua distillata.
4. Soluzione acquosa di acido picraminico (opp. eliantina) al 0,5%—1′.
5. Acqua distillata.
6. Alcool assoluto, Benzolo, Xilolo, Balsamo.
Cheratojalina e Eleidina violette.
Nuclei rossi.
Fondo giallo (ac. picraminico) o aranciato (eliantina).

Sia detto qui di sfuggita come tutti questi metodi che meglio si prestano per la dimostrazione della cheratojalina, colorano ottimamente anche la fibrina.

Va notato che esistono alcuni colori basici, particolarmente gli azoderivati delle Safranine che tingono i nuclei ma non la cheratojalina: così è dell' Janusrot, Janusblau, Janusgrün, dell' Indoina; e inoltre il Toluylenblau, il Neutralblau sopratutto dell' Indaminblau[1]), del Paraphenilenblau, dell' Indulinscharlach. Le sezioni fatte al congelatore di pezzi fissati in formolo sono colorate per 1′ nella soluzione acquosa concentrata del colorante (1% circa), lavate in acqua, passate in alcool, benzolo, xilolo, balsamo.

I migliori di tutti a tal' uopo sono l'azzuro di indamina, e il bleu di parafenilene.

Servendomi di tali metodi ecco quanto ho potuto constatare.

Su preparati colorati coi metodi di dimostrazione delle fibrille, sopratutto usando preparazioni in diverso grado di decolorazione si può ossevare che, passata la zona dove più florida è la produzione fibrillare, esistono alcuni strati di cellule in cui le fibrille si fanno più sottili, si accorciano, esse non sono più visibili con tutta quella uniformità e per tutta quella

[1]) Ricorderò incidentalmente che queste sostanze e particolarmente il Paraphenylenblau, l'Indulinscharlach, l'Indaminblau, assieme al Chresylechtviolett sono colori nucleari fra i più puri che si conoscano.

lunghezza con cui erano antecedentemente manifeste. Si vedono frammenti minimi di fibrille di diversa figura, per lo più angolosi, tozzi, di forma quasi bacillare; qualche volta le fibrille stesse sono quasi arruffate come in un gomitolo inestricabile.

Spesso esistono blocchi irregolari costituiti da un ammasso informe di sostanza a cui si attaccano tre o quattro esili filamenti, corti e degenerati. Mano mano che progredisce tale processo il cui fatto predominante è una fibrorrhexis o fibrillorrhexis o fibrolysis che dir si voglia, si vedono comparire i granuli di cheratojalina. Essi sono dapprima piccoli, scarsi, connessi o framezzati a fibrille ancora intatte; poi si fanno vieppiù grandi, da irregolari assumono a poco a poco la forma di piccole sfere regolari; mentre le fibrille vanno vieppiù spezzettandosi e scomparendo; finchè si presenta in tutto il suo caratteristico aspetto la cellula cheratojalinica, nella sua forma più o meno regolarmente losangica, o ovoidale o elissoide, carica di granuli.

La prima comparsa dei granuli avviene sparsamente nel corpo cellulare, talora verso i poli di esso, tal' altra attorno al nucleo in un' area d'aspetto più chiaro.

Anche dove le cellule sono più cariche di granuli di cheratojalina si osservano ancora fibrille ma in numero sempre decrescente.

Il nucleo non sembra prendere parte alcuna al processo, come si può vedere sopra sezioni colorate coll' azzurro di indamina.

Ma se tale è il reperto che frequentissimamente si ha dall' esame di grande numero di preparati di cute dei polpastrelli delle dita, non poche volte si ottengono risultati diversi.

In altri preparati infatti, usando sempre gli stessi metodi di colorazione delle fibrille, ho potuto constatare che accanto a granuli di cheratojalina bene evidenti esistevano nettamente visibili abbondanti filamenti.

Dall' esame, per quanto accurato, di questi preparati, è difficile concludere per un rapporto fra le due formazioni. I granuli di cheratojalina sembrano formarsi indipendentemente, fra le maglie delle fibrille, solo qualche volta sembrano disposte a ridosso dei filamenti stessi e quasi depositati su di essi[1]).

Finalmente sopra pezzi di dita della mano (del dito indice specialmente) portando l' esame in special modo all' apice e in vicinanza dell' unghia, potei osservare un' interessante particolarità. Lo strato Malpighia-

---

[1]) Benchè spesso, anzi quasi sempre accanto a cheratojalina già costituita si possano rilevare filamenti, è un fatto però che dove esiste maggior copia di cheratojalina vi è minor numero di fibrille.

no ha la struttura normale, lo strato granuloso è discretamente sviluppato e mostra un numero rilevante di gocce di cheratojalina.

Passato quest' ultimo strato si constata un aumento delle cellule; il nucleo subisce rapidamente un fenomeno di picnosi, si trasforma in un corpiciattolo sferoidale che non tarda ad assumere i colori dell' eleidina.

Invece il corpo protoplasmatico ingrandito e rigonfio mostra un numero non indifferente di fibrille che si tingono intensamente coi metodi a ciò adatti mentre non mostra più alcun vestigio di grani cheratojalinici. A livello del lucido, tali cellule per lo piu non sono rilevabili, e riappaiono poi col loro apparato filamentoso nello strato cheratinogeno e a poco si tramutano in elementi cheratinici; le fibrille impallidite alquanto, si possono vedere ancora per quasi tutto il corneo propriamente detto. Ma un fatto sopratutto è degno di nota: molte di queste cellule provvedute di filamenti passano inalterate attraverso il lucido. Tutto ciò fa concludere naturalmente che l'apparato fibrillare non partecipa alla formazione della cheratojalina.

Ma altre particolarità interessanti sono pure visibili negli stessi preparati (specialmente colorando coi metodi indicati per la cheratojalina), e sono date da un particolare processo di trasformazione nucleare: poco al di sopra della porzione basale del Malpighiano molti nuclei subiscono una trasformazione sui generis, la quale corrisponde in parte a quella descritta dal Flemming col nome di cromatolisi (o cariolisi, di altri autori).

La sostanza cromatica cioè si disgrega in tante sferule abbastanza regolari, ora sparse per tutta l'area nucleare ora accumulate in una parte di essa, che allora assume la forma di una semiluna[1]).

Ulteriormente questi granuli si accumulano in blocchi più voluminosi o si spezzettano, fuoriescono dal nucleo, finchè, attraverso qualche stadio di transizione, assumono l'aspetto di gocce cheratojaliniche.

Questo fenomeno porterebbe logicamente ad una nuova conclusione: a quella dell' origine nucleare della cheratojalina. Ma giova avvertire che si osservano altresi numerosissime cellule ricche di granuli cheratojalinici nelle quali esiste un nucleo, sia pure picnotico e deforme, e che d'altra parte coi particolari colori che io ho ricordato si possono mettere in evidenza i nuclei stessi fino a livello dell' eleidinogeno (v. funzione eleidinica; nota III).

In alcuni punti parrebbe che la membrana nucleare si accartocciasse

---

[1]) Credo inutile far rilevare che tale forma semilunare può essere una semplice apparenza, dovuta al modo come è caduta la sezione, e che potrebbe invece mascherare una figurare discoidale.

dopo le fuoriuscita delle gocce cheratojaliniche e subisse la metamorfosi picnotica.

Finalmente sopra altri preparati, specialmente se colorati col metodo Litiocarminico-Indazina-Ac. picrico, si può vedere comparire la cheratojalina in forma di gocce dapprima piccole e poi grandi che si costituiscono in seno al protoplasma e finiscono poi per ricoprire e mascherare il nucleo. Dove per prima si manifestano si forma attorno un' area chiara. Le stesse sezioni colorate però con ematossilina ferrica alcoolica e rodamina lasciano vedere cellule del granuloso che contemporaneamente racchiudono fibrille e granuli di cheratojalina.

Alla questione se questi reperti corrispondano a modi vari di formarsi della cheratojalina o piuttosto a fenomeni o a parvenze accidentali e transitorie io credo che si debba rispondere nel senso che realmente l'origine della cheratojalina è molteplice.

La genesi nucleare e quella protoplasmatica sono così evidenti che nessuna seria obbiezione si può muovere; che si abbia altresì una compartecipazione delle fibrille è confortata dall' esame dei preparati nei quali si può vedere una diminuzione progressiva, che va fino alla scomparsa totale delle fibrille, mano mano che si accentua e si compie la produzione cheratojalinica.

D'altra parte coi metodi di colorazione di questi elementi che per lo più tingono anche la cheratojalina, si vede che queste due formazioni hanno le stesse reazioni cromatiche.

La tabella seguente chiarirà meglio tale particolarità.

	Metodo usato	Fibrille epidermiche	Cheratojalina	Eleidina
1.	Metodo Rhodamin-picrato di NH_4	rosse	rossa	rossa
2.	M. Giroflé-ac. picrico	rosse	rossa	rossa
3.	M. Viktoriablau B — Kristallponceau	violette	azzurra	rossa
4.	M. Indoina — Eliantina	brune	bruna	bruna
5.	M. Indoina — Neucoccin	azzurre	azzura	rossa
6.	M. Eritrosina-Cianina-picrato di NH_4	violette	violetta	rossa aranciata
7.	Id. id. + Acridinrot	violette	rossa	aranciata
8.	M. Eosina-Metylblau	rosse	bleuvioletta	rossa
9.	M. Eosina — Aurantia-Indulina	aranciate	aranciata	aranciata
10.	M. Coerulein S. — Tannin-Orange	brune	bruna	—

Quindi anche dal punto di vista cromatico non si può negare un nesso tra formazione filamentosa e cheratojalinica.

Terminerò ricordando che su sezioni di pezzi fissati in bicromato di K + ac. acetico, e colorati con aurantia-eosina-indulina, in cui nuclei, cheratojalina eleidina e fibrille appaiono tinti in aranciato, potei talvolta constatare la cheratojalina originarsi contemporaneamente dai nuclei e dalle fibrille.

Da tutto questo la sola conclusione possibile è che la cheratojalina può aver origine tanto dalle fibrille, quanto dai nuclei, quanto dalla sostanza fondamentale protoplasmatica. Le due ultime maniere di prodursi spesso sono associate. Il prevalere dell' una o dell' altra origine è in rapporto colla funzione, che può variare notevolmente anche nelle stesse regioni di pelle, forse col vario modo di cheratinizzarsi che vedremo più dettagliatamente in seguito.

I nuclei, quando non subiscono in seno allo strato granuloso stesso la trasformazione cheratojalinica, si fanno gradatamente picnotici e subiscono poi ulteriori evoluzioni che vedremo tra poco a livello dello strato eleidinogeno.

Come ho detto or ora, per la cheratojalina esistono variazioni quantitative (certamente in rapporto collo stato funzionale in cui si trovava la cute all' atto della fissazione) constatabili sulle medesime regioni; su regioni diverse queste variazioni sono poi molto ampie e portano in certi punti a concludere ad una vera e propria assenza della cheratojalina. Manca essa realmente o è piuttosto una parvenza, dovuta sia all' imperfezione dei metodi, sia, e più probabilmente, al fatto che è mascherata da altri elementi? Non sono in grado per ora di dare una recisa risposta. Ad ogni modo però è certo che per quanto scarsa o appena appariscente, per quanto ridotta a una serie sola di cellule, la cheratojalina è rilevabile nella massima parte dei casi.

Nelle pseudomucose e nelle mucose manca per lo più od è scarsissima; quando è presente mostra spessissimo una evidente origine nucleare.

In generale questo si constata: la produzione cheratojalinica è maggiore dove è più spessa l'epidermide e con essa aumenta quasi sempre il quantitativo della produzione eleidinica.

La membrana cellulare appare costantemente nelle varie regioni; si fa evidente sopratutto a livello del granuloso, evidentissima nel cheratinico. Essa si dimostra particolarmente bene col metodo seguente: si colora per 5′ in soluzione acquosa di Pyrholbau all' 1%. Si lava in acqua, si controcolora in soluzione alcoolica satura di Hessisch-Purpur, si lava in acqua, alcool, benzolo etc. Le Membrane del granuloso e i ponti intercellulari sono colorati in azzurro cupo.

Nelle pseudomucose e nelle mucose, dove pure manca del tutto o

quasi la funzione fibrillare, si osserva precocemente una evidentissima membrana, per la cui dimostrazione non sono neppure necessari metodi speciali.

In corrispondenza di tali regione la cheratojalina va a poco a poco scomparendo perchè nelle mucose il suo reperto è addirittura eccezionale[1]).

Da quanto ho detto, risulta che nello strato granuloso i fenomeni più salienti possono così riassumersi:

Le fibrille che si sono costituite nello strato filamentoso possono permanere in parte, in parte possono dar luogo a granuli di cheratojalina, oppure degenerare.

Il diverso modo di comportarsi è specialmente in rapporto col tipo di cheratinizzazione a cui l'epidermide va incontro.

La cheratojalina può originarsi in diverse maniere, e cioè:

1. dalle fibrille, come ho detto, ciò che non sembra accadere molto di frequente.

2. dal fondo del protoplasma, probabilmente da quella sostanza fondamentale d'aspetto amorfo o finissimamente granulare che si colora comunemente colle tinte basiche in uso.

3. Dal nucleo, per un processo analogo a quello osservato da Flemming nel follicolo ovarico e da lui denominato di cariolisi.

Spesso, con metodi adatti, accanto a fibrille possono riscontrarsi granuli di cheratojalina; in ogni modo però quanto più abbonda la cheratojalina altrettanto scarso è il numero di fibrille, le quali sono allora corte, rudimentali, atrofiche.

Si può spesso, all' apice delle dita in vicinanza dell' unghia riscontrare delle cellule ricche di filamenti permanere tali e quali anche nel granuloso e negli strati successivi, mostrando una produzione cheratojalinica solamente parziale e tansitoria, alla quale le fibrille non prendono parte alcuna.

Il nucleo, oltre alla trasformazione cheratojalinica già ricordata, può mantenersi inalterato per tutto il granuloso, più freqentemente, subire la trasformazione picnotica.

La membrana costituitasi nel corpo mucoso è costante e nettamente rilevabile.

Nelle varie sedi può variare lo spessore del granuloso e così pure il

---

[1]) È noto che Unna, contrariamente a Lazansky e Dreysel e Oppler non riesci a trovare cheratojalina a livello del rosso delle labbra. Tutti s'accordano invece nel ritenere le mucose prive di cheratojalina.

quantitativo della produzione cheratojalinica; un' assenza totale è rara. In generale il suo quantitativo è in proporzione diretta collo spessore del corneo. Non mi è stato dato finora di riscontrare cheratojalina a livello delle mucose.

Bibliografia.

[I ll. cc. si riferiscono alla memoria antecedente pubblicata in questo Archivio, XII, p. 457.]

Anitschkoff, l. c.

Apolant, Arch. f. mikr. Anat. 1898, LVII, 766.

Aufhammer, Physik. Med. Gesellsch. z. Würzburg, N. F. 1869.

Bizzozero, Arch. f. Dermat. u. Syphilis 1909, XCVII.

Blaschko, l. c.

Branca, l. c.

Buzzi, l. c.

Cajal, l. c.

Darier, l. c,

Dreysel e Oppler, Archiv f. Dermat. u. Syph. 1895, XXX, 63.

Dubreuilh, Journ. d. mal. cutan. et syph.. 1895, p. 623.

Ernst, Virchows Archiv 1892, CXXX.

Fick, Zentralbl. f. allgem. Pathol. 1902, XIII, 987.

Grosse, Keratoyalin u. Eleidin u. ihre Beziehung z. Verhornungsprozeß. In.-Dissert. Königsberg 1892.

Kölliker, l. c.

Kromayer, Arch. f. Dermat. u. Syph. 1890, XXII, 594. — Monatshefte f. prakt. Dermat. 1897, XXIV, 450.

Laffont, Bibliographie Anatomique XVIII, p. 209.

Langerhans, Arch. f. mikrosk. Anat. 1873, IX, BS.

Lazanski, Zeitschrift f. Heilk. 1891, XI.

—— Arch. f. Derm. u. Syph. (Derm. Gesellsch. 1889, Ergänz.-Heft).

Mertsching, Virchows Archiv 1889, CXVI, 3.

Migliorini, l. c.

Oehl, Indagini di Anat. microscopica, Ann. Universali di Medicina, Milano 1857.

Pavloff, Monatsh. f. prakt. Dermat. 1889, IX.

Posner, Virchows Archiv 1889, CXVIII, BS.

Rabl, Verh. d. Anat. Gesellsch. 1897 e l. c.

Ranvier, l. c.

Recklinghausen, l. c.

Reinke, l. c.

Renaut, C. R. de l'Acad. d. Sciences 1887 t. 95.

Rosenstadt, Archiv f. mikrosk. Anat. 1897, XLIX.

—— Int. Monatsschrift f. Anat. u. Histol. 1893, X.

Schrön, Contrib. all' anat. della cute umana. Torino 1865.

Selhorst, Keratohyalin u. Fettgehalt d. Haut. Inaug. Dissert. Berlin 1890.

Sorrentino, Giorn. internaz. per le Scienze Mediche 1899.
Tettenhammer, Anat. Anzeig. 1893, VIII.
Tischutkin, l. c.
Unna, Pariser Briefe, M. Hefte VII, 614.
—— Monatsh. f. prakt. Dermat. 1882, p. 306 e 1895 XX p. 69.
—— Archiv f. mikrosk. Anatomie 1875, XII, 665.
D'Urso, Giornale natural. Napoli I, II.
Waldeyer, Festgabe v. Henle, Bonn 1882.
Weidenreich, l. c.
Winkler u. Schrötter, Eleidinfrage, Wien 1890.
Zabludowski, Mitt. aus. d. k. k. embryol. Instit. d. Universität, Wien 1880, II BS.
Zander, Arch. f. Anat. u. Phys. Anat. Abteil. 1888.

Spiegazione della tavola XXX.

Emigrazione delle cellule con apparato filamentoso intatto attraverso il lucido. Preparato colorato con Victoriablau B — Kristallponceau, da un polpastrello di dito di giovanetta diciottenne (microfotografia fatta con lastre autocromatiche Lumière).

A questa nota va annessa una figura (erroneamente stampata nella III[a] nota) in cui si dimostra l'origine nucleare della cheratojalina, in forma di piccole zolle (*a*), che poi confluiscono in blocchi di maggior volume (*b*), tinti in nero cupo.

Referate.

Boveri, Th. Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren. Jena 1914. G. Fischer. 64 Seiten. M. 1.50.

Bereits vor 12 Jahren hatte Boveri in seiner Schrift »Über mehrpolige Mitosen als Mittel zur Analyse des Zellkerns« der Vermutung Ausdruck gegeben, die malignen Tumoren könnten in einem abnormen Chromosomenbestand ihre Ursache haben, wie er durch mehrpolige Mitosen hervorgerufen werden kann. Was ihn, den Zoologen, veranlaßt, seine Hypothese nunmehr in einer besonderen Abhandlung ausführlich zu begründen, ist vor allem die Tatsache, daß das Geschwulstproblem ein Zellenproblem ist, »und es ist wenigstens nicht unmöglich, daß ein Biologe, der gewisse Lebenserscheinungen der Zellen zu ergründen sucht, auf Eigenschaften geführt wird, die aus dem Studium der Tumoren selbst nicht entnommen werden können und doch deren Wesen ausmachen.«

Boveri stellt sich auf Seite derer, die zwischen malignen und benignen Tumoren eine scharfe Trennung machen. Wenn gelegentlich ein gutartiger Tumor in einen bösartigen übergehen kann, so ist das nichts anderes, als wenn im normalen Gewebe eine maligne Geschwulst auftritt. Die Zellen auch des bösartigsten Tumors können von normalen Gewebezellen abstammen, es sind Zellen, denen irgend welche Eigenschaften der normalen Zelle fehlen. Solche defekten Zellen reagieren auf die Umgebung anders als die normalen, sie zeigen die Tendenz zu hemmungsloser Wucherung. Durch das Fehlen bestimmter Eigenschaften ist so aus dem altruistischen Wesen, als das die normale somatische Zelle zu betrachten ist, wieder ein egoistisches geworden, das organotypische Wachstum ist, um einen Ausdruck R. Hertwigs zu gebrauchen, zum cytotypischen zurückgekehrt.

An der Hand einiger Ergebnisse der experimentellen Cytologie prüft sodann Boveri die Frage, wo dieser Defekt, den die Tumorzelle aufweist, zu suchen ist. Bei Wegnahme von Protoplasma wird eine Zelle nicht in nennenswerter Weise geschädigt. Das Protoplasma ist in seinen verschiedenen Regionen im wesentlichen aus den gleichen Substanzen zusammengesetzt, es vermag der weggenommene Teil von dem Fragment regeneriert zu werden. Anders beim Kern. Mehrpolige Mitosen — wie sie z. B. bei Doppelbefruchtung oder bei unterdrückter Zellteilung beobachtet werden — haben eine ungleiche Verteilung der Chromosomen zur Folge. So entstehen Kerne, denen einzelne Teile fehlen. Fehlende Chromosomen oder auch nur Stücke von solchen können aber nicht regeneriert werden. Die durch mehrpolige Mitosen entstandenen Kerne zeigen in der Mehrzahl der Fälle ein krankhaftes Verhalten und gehen schließlich zu Grunde. Nicht so sehr die abnorme Chromosomenzahl ist, wie die Untersuchungen ergeben haben, für die Zelle verderblich, sondern vielmehr die unrichtige Chromosomenkombination. Den einzelnen Chromosomen kommt eine verschiedene Wertigkeit zu; es gibt Chromosomen, deren Fehlen die weitere Existenz der Zelle unmöglich macht.

Die für die Kerne der Seeigel nachgewiesene Verschiedenwertigkeit der Chromosomen dürfte auch im übrigen Tier- sowie im Pflanzenreich existieren. Diese Annahme bildet die Grundlage für Boveris Geschwulsthypothese: Die Zelle des malignen Tumors besitzt einen abnormen Chromosomenbestand. In der normalen Zelle sind im Kern bestimmte Chromosomen vereinigt, das Zusammenwirken bestimmter Chromatinelemente veranlaßt den normalen Betrieb der Zelle. Man könnte sich vorstellen, daß die normale Zelle teilungshemmende oder teilungsfördernde Chromosomen besitzt. Bei Beseitigung der »Hemmungschromosomen« würde die Zelle des unbegrenzt wachsenden Tumors entstehen. Bei Annahme der Existenz teilungsfördernder Chromosomen könnte eine unbegrenzte Wucherungstendenz dadurch eine Erklärung finden, daß in der Zelle des malignen Tumors jene »Teilungschromosomen« — vielleicht sind zwei für den diploiden Kern normal — das ständige Übergewicht gewonnen haben. Boveri neigt indessen mehr der Annahme zu, daß der gesamte Chromosomenkomplex einer Gewebezelle in bestimmter Weise auf seine Umgebung abgestimmt ist. »Teilung«, so denkt er sich, »erfolgt dann, wenn durch eine Änderung der Umgebung der Chromosomenkomplex so affiziert wird, daß er sein gewohntes Gleichgewicht verliert; aber Störung dieses Gleichgewichts und damit Teilung tritt auch dann ein, wenn sich in dem Chromatinbestand selbst eine gewisse Änderung ergibt, wie sie durch Wegnehmen einzelner Chromosomen erreicht würde, die vielleicht gar nicht bestimmte sein müßten.« Durch diese Annahme ließen sich auch die verschiedenen Wucherungstendenzen der Tumoren erklären. Der abnorme Chromosomenbestand ist das Wesentliche an Boveris Hypothese. Wie dieser entsteht, ist eine Frage für sich und im Grunde gleichgültig. Eine Erkrankung bestimmter Chromosomen, eine Zerstörung durch Parasiten oder äußere Einflüsse, vor allem aber Unregelmäßigkeiten bei der Mitose (mehrpolige und asymmetrische Mitosen) können diesen Zustand herbeiführen.

Ausführlich behandelt Boveri den erklärenden Wert seiner Hypothese für die Geschwulstforschung. Ohne hier des näheren auf dieses interessante Kapitel eingehen zu wollen, seien wenigstens die wichtigsten Punkte kurz hervorgehoben.

Der Defekt, den die maligne Zelle besitzt, ist unreparierbar, wir dürfen also — s. oben — wohl annehmen, daß er seinen Sitz im Kern hat. Boveri ist der Überzeugung, daß typischerweise jede Geschwulst aus einer einzigen Zelle ihren Ursprung nimmt. Diese »Urzelle« des Tumors weist infolge irgend eines abnormen Vorganges einen falsch kombinierten Chromosomenbestand auf, der die Ursache ihrer Wucherungstendenz ist. Durch reguläre mitotische Teilung überträgt eine Tumorzelle ihren anormalen Chromosomenbestand auf die Tochterzellen. Damit hängt es zusammen, daß, obgleich ein und dasselbe Muttergewebe verschiedenartige Tumoren hervorbringen kann, doch der Charakter einer einzigen Geschwulst typischerweise ganz einheitlich ist, ebenso wie der ihrer Metastasen und Transplantate. Die falsche Chromosomenkombination der Tumorzelle ist gleichbedeutend mit einer abnormen Stoffkombination, es resultiert ein abweichender Stoffwechsel der Geschwulstzelle. Als die wichtigste Tatsache der Geschwulstlehre, die zugunsten seiner Hypothese spricht, sieht Boveri die Entstehung verschiedener Geschwulsttypen aus dem gleichen Muttergewebe an. Es sind die verschiedensten Chromosomenkombinationen möglich. Während die einen vielleicht unschädlich sind oder lebensunfähige Zellen liefern, vielleicht auch zwar lebensfähige aber teilungsunfähige Zellen, verleihen andere den Zellen die verderbliche Wucherungstendenz und geben so den verschiedensten malignen Tumoren den Ursprung. Die Zahl der Geschwulstmodifikationen ist, wenn die Hypothese richtig ist, natürlich zunächst einmal abhängig von der Chromosomenzahl. Beim Menschen, der in seinen Gewebezellen

nach WINIWARTER 48 Chromosomen besitzt, sind mehr Kombinationen möglich als z. B. bei der Maus mit nur 32 Chromosomen. Bei einem Tier mit ganz wenigen Chromosomen können vielleicht überhaupt keine malignen Tumoren entstehen, da schon die Entfernung auch nur eines einzigen Chromosoms der Zelle die Lebensfähigkeit völlig nimmt. BOVERI behandelt sodann das Vorkommen mehrerer Geschwülste von gleichem Typ in einem Organ oder Organsystem unabhängig voneinander, die Erblichkeit von Tumoren, das Entstehen von Tumoren mit zwei oder mehr verschiedenen Zelltypen aus dem gleichen Muttergewebe, die Bildung der Metastasen, die allmähliche Änderung des Charakters eines Tumors. Pressung, heftige Erschütterung, abnorme Temperaturen, Gifte, wie Chinin, Chloralhydrat, Morphium, Nikotin sind Agentien, welche mehrpolige Mitosen hervorrufen können. Man vergleiche damit die chronischen Reize, die Krebs zur Folge haben können. Pressung: Carcinom der Gallenblase bei sich stark schnürenden Frauen; Zerrung: Hautkrebs der nur am rechten Horn angespannten Rinder in Indien, ausschließlich an der Wurzel dieses Horns auftretend; erhöhte Temperatur: Speiseröhrenkrebs der chinesischen Reisesser, die den Reis möglichst heiß essen; der Röntgenkrebs; chemische Reize: Carcinome der Paraffinarbeiter. Auch dort, wo Parasiten als Geschwulsterreger in Betracht kommen, dürften chemische Reize eine wichtige Rolle spielen. Die Tatsache, daß Sarkome und besonders Carcinome mit dem Lebensalter an Häufigkeit zunehmen, verträgt sich ebenfalls gut mit BOVERIS Hypothese. Und besonders interessant ist, daß maligne Tumoren bei älteren Individuen zwar leichter entstehen, daß sie aber, wie die Verpflanzungsexperimente gezeigt haben, bei jugendlichen besser gedeihen. Auch die Erfahrungen über die in Carcinomen gefundenen Chromosomenzahlen und Kerngrößen sind der Hypothese sehr günstig.

Im Rahmen eines kurzen Referates ist es unmöglich, über die gedankenreichen Ausführungen eingehend zu berichten. Einen vollen Einblick in die Ideen BOVERIS vermag nur die Schrift selbst zu gewähren. Hier sei indessen noch etwas näher auf das Kapitel eingegangen, in dem BOVERI einige Einwände im voraus zurückweist, die seiner Hypothese von Seite der Cytologen gemacht werden könnten.

Atypische Mitosen — dieser Einwand ist BOVERI bereits verschiedentlich mündlich gemacht worden — sollen für die malignen Tumoren keineswegs spezifisch sein, sie sollen sich auch sonst, in gutartigen Wucherungen sowohl wie in vollkommen normalem Gewebe, finden. Dem erwidert BOVERI, daß seine Hypothese atypische Mitosen gar nicht als eine wesentliche Eigenschaft der malignen Tumoren ansieht, im Gegenteil, »das eigentliche Wachstum der Geschwulst kann nur durch reguläre zweipolige Mitosen vor sich gehen«. Die atypische Mitose bildet nur den Ausgangspunkt der Geschwulst. Treten in dem Tumor neue atypische Mitosen auf, so können diese den Charakter der Geschwulst verändern. In den meisten Fällen allerdings werden die neu geschaffenen Chromosomenkombinationen lebensunfähige Zellen liefern, ausgedehnte Degenerationserscheinungen sind die Folge; »die aus einer Geschwulstzelle durch eine mehrpolige Mitose entstandenen Zellen sind in den weitaus meisten Fällen keine Geschwulstzellen mehr; und es ist also, so paradox dies klingen mag, die atypische Mitose, die im gesunden Gewebe zu der verderblichen Abnormität führen kann, in der bereits bestehenden Geschwulst eher als ein Heilfaktor anzusehen.«

Der wichtigste Einwand gegen seine Hypothese kann nach Ansicht von BOVERI von denen gemacht werden, die das Vorkommen amitotischer Zellteilungen im normalen Gewebe als erwiesen betrachten. Nach der Theorie der Chromosomenindividualität sind im ruhenden Kern die einzelnen Chromosomen in ihrer Individualität unverändert. Wenn nun ein solcher Kern sich amitotisch durchschnürt, so werden die im Kern regellos

verteilten Chromosomen im allgemeinen auch regellos auf die Tochterkerne verteilt, es entstehen Zellen, die in ähnlicher Weise abnorme Chromosomenkombinationen besitzen wie die durch atypische Mitosen entstandenen Zellen. Ist die Hypothese Boveris richtig, so müßten solche Zellen ebenfalls im allgemeinen pathologisch und dem Tode verfallen sein. Chromosomenverhältnisse, die Kautzsch nach einer direkten Teilung abnorm großer II. Richtungskörper von *Ascaris* beobachtete, waren in der Tat vollkommen pathologisch. Wie steht es aber mit den Angaben über das normale Vorkommen amitotischer Teilungen? Man muß Boveri vollkommen recht geben, wenn er alle diese Angaben mit der größten Skepsis aufnimmt und immer wieder betont, »daß gelappte Kerne oder zwei Kerne in einer Zelle und die schönste Serie von Bildern, die man zwischen einem einfachen und einem doppelten Kern zusammenstellen kann, an sich nicht das mindeste für eine direkte Teilung auch nur des Kerns beweisen.« Die meisten Angaben über normale direkte Zellteilung bei Metazoen dürften auf Irrtümern beruhen. Es seien nur zwei von Boveri erwähnte Fälle herausgegriffen: die Angaben von Child über Amitose bei *Moniezia* sowie die Shearers über die Eibildung des *Dinophilus*. Richards, der die Resultate von Child nachprüfte, kam zu dem Ergebnis, daß Mitosen zwar nur selten zu beobachten sind — wohl deshalb, weil sie sehr schnell ablaufen —, daß aber für die Existenz amitotischer Vermehrung sich ein Beweis nicht erbringen läßt. Auch Shearers Angaben über amitotische Ovogonienteilungen bei *Dinophilus* lassen sich nach jüngst veröffentlichten Untersuchungen des Ref. nicht aufrecht erhalten. Auch hier werden Mitosen zwar selten gefunden — aus demselben Grunde wahrscheinlich wie bei *Moniezia* —, aber sie sind vollkommen normal. Die von Shearer als amitotische Teilung beschriebenen Stadien haben mit einer solchen nichts zu tun.

Gibt es Mittel, durch die sich die von Boveri aufgestellte Hypothese auf ihre Richtigkeit prüfen läßt? Einen Tumor in statu nascendi zu beobachten, dürfte als ausgeschlossen zu betrachten sein. »Diejenige abnorme Mitose, welche den Ausgangspunkt des Tumors bildet, ist, wenn einmal über die Natur der Wucherung kein Zweifel mehr besteht, längst abgelaufen.« Immerhin glaubt Boveri, daß es einige Wege zu einer solchen Prüfung seiner Hypothese gibt. Der Weg, den Boveri selbst einzuschlagen versuchte, hat sich allerdings bisher als erfolglos erwiesen.

Das letzte Wort in diesen Fragen gebührt natürlich dem Pathologen, und so darf man hoffen, daß der von Boveri am Schlusse seiner Schrift ausgesprochene Wunsch in Erfüllung geht, daß seine Argumentation »die in der Geschwulstfrage tätigen Forscher geneigt machen möge, ihre bisherigen Erfahrungen von dem hier dargelegten Standpunkt aus zu betrachten und bei ihren künftigen Studien sich zu fragen, ob das, was sie finden, die vorgetragene Hypothese widerlegt oder ihr zur Stütze dienen kann«.

Nachtsheim (Freiburg).

G. L. Kite and Robert Chambers, Ir., Vital staining of Chromosomes and the Function and Structure of the Nucleus. Science, N. S. Vol. XXXVI. No. 932. 639—641. November 8, 1912.

Vorläufige Mitteilung über vitale Chromatinfärbungen mit »Janusgrün«. Untersucht wurden Hoden von Heuschrecken, Grillen und Wanzen in Ringerscher Lösung, der etwas Janusgrün zugesetzt worden war. Die Chromosomen und verschiedenen Granula färben sich blau. Da der Farbstoff die Zellen nicht stark zu schädigen scheint, konnten Teilungen mit gefärbten Chromosomen wiederholt beobachtet werden. Bei der Reduktion geht der Farbstoff in Rot über, ein Umschlag, der zunächst im »Nebenkern« eintritt.

v. Kemnitz (München).

G. L. Kite, Studies on the physical properties of protoplasma. I. The Physical Properties of the Protoplasma of certain animal and plant cells. Amer. Journ. of Physiol. Vol. XXXII. No. II. 1913.

Als Untersuchungsmethode wurde vornehmlich Anstechen lebender Zellen (Eier von *Asterias*, *Amoeba sartens*, *Paramaecium*, *Spirogyra*, Muskel- und Epidermiszellen von *Necturus*) mit ganz feinen aus Jenenser Glas gefertigten Nadeln angewendet. Dabei ergibt sich folgendes: Eine Wabenstruktur ist meist nicht nachzuweisen. Das Plasma zeigt die Eigenschaften eines »Gels« von relativ hoher Viscosität, das in Bänder ausgezogen werden kann. Ein Teil des Plasmas besteht aus Granula, die vom Plasma befreit, sich nicht in Wasser lösen. Die Untersuchung des Kerns lehrt, daß sich sein Inhalt mit Ausnahme des Nucleus im »Sol«-Zustand befindet. Letzteres gilt wenigstens für *Asterias*-Eier. Bei Protisten befindet sich auch der Kern im »Gel«-Zustand und besitzt eine höhere Viscosität als das Plasma. Das im Kern vieler Protisten beschriebene »Netzwerk« wird dadurch vorgetäuscht, daß das »Gel« an verschiedenen Stellen verschiedene Dichte hat. **v. Kemnitz** (München).

Paul Schulze, Studien über tierische Körper der Carotingruppe. I. Insecta. Sitz.-Ber. d. Ges. naturforsch. Freunde Berlin. Jahrg. 1913. Nr. 1. p. 1—22. 3 Tafeln.

Verf. untersucht die Bildung der roten und gelben Pigmente in den Flügeldecken von Chrysomeliden (*Melasoma*-Arten). Diese Pigmente gehören zur Gruppe der Carotine (früher Lipochrome genannt), was eine Untersuchung auf Paraffinschnitten unmöglich macht. Verf. bringt daher abgeschnittene Stücke Flügeldecke in Kanadabalsam und untersucht und photographiert solche Präparate, solange der Balsam noch nicht eingedrungen ist und das Pigment gelöst hat. Im einzelnen ergibt sich folgendes: Frisch geschlüpfte Käfer enthalten noch kein Pigment in den Decken. Bald aber wird Blut in die Elytren gepumpt. Das Blut enthält große Zellen, die wie sich zeigen läßt, aus dem Fettkörper stammen und die Vorstufe des Pigments in ihrem Plasma enthalten. Diese Zellen teilen sich nun lebhaft amitotisch und bilden bald ein kontinuierliches »Carotingewebe«, das nunmehr den ausgebildeten Farbstoff enthält. Vor der Eiablage verblassen die Flügeldecken, das Carotingewebe degeneriert fettig und der gelbe Farbstoff findet sich schließlich in den abgelegten Eiern. Betrachtungen über die chemischen und physikalischen Eigenschaften, besonders der von Willstätter untersuchten Carotine und ihre physiologische Bedeutung bilden den Schluß der Mitteilung.

v. Kemnitz (München).

Harry Federley, Ein Beitrag zur Kenntnis der Spermatogenese bei Mischlingen zwischen Eltern verschiedener systematischer Verwandtschaft. Öfversigt af Finska Vetenskaps-Societetens Förhandlinger. Bd. LVI. Afd. A. Nr. 13. 1914. p. 1—28. 12 Figuren.

Nachdem Verf. in einer früheren Arbeit (vgl. Referat im Archiv für Zellforschung, Bd. 11, S. 481) die Spermatogenese einiger *Pygaera*-Bastarde untersucht hat und dabei zu dem Ergebnis gekommen ist, daß bei Artbastarden die Chromosomenkonjugation ganz oder zum größten Teil unterbleibt, behandelte er in vorliegender Mitteilung die Samenreife der F_1-Generation einiger *Smerinthus*-Bastarde. Die Resultate seien in

folgender Tabelle zusammengestellt, zu deren Verständnis vorausgeschickt sei, daß die haploiden Chromosomenzahlen für *Sm. tiliae* = 29, für *Sm. populi* = 28, für *Sm. ocellata* und var. *planus* = 27 betragen.

	Sm. ocellata ♀ × *tiliae* ♂ (**Gattungsbastard**)	*Sm. populi* ♀ × *ocellata* ♂ (**Artbastard**)	*Sm. ocellata* ♀ × *ocellata* ♂ var. *planus* (**Rassenbastard**)
Spermatogonien u. Wachstumsperiode:	anscheinend normal	normal	?
Synapsis:	meist sehr deutlich und typisch ausgebildet		
Pseudoreduktion durch Konjugation:	findet nur zwischen einig. Chromos. statt	fehlt	findet nur zwischen einig. Chromos. statt
I. Reifeteilung:	40-47 Chromosomen (erwartet 56 [27 + 29])	50-56 Chromosomen (erwartet 55 [28 + 27])	36-49 Chromosomen (erwartet 54 [27 + 27])
II. Reifeteilung:	wird durchgeführt	wird durchgeführt	?
Spermien:	anscheinend normal	befruchtungsfähig	?

Auffallend sind hierbei besonders folgende Punkte: 1. Während bei den *Pygaera*-Bastarden bei Fehlen der Pseudoreduktion auch die Synapsis fehlt, ist hier eine derartige Gesetzmäßigkeit nicht vorhanden. Das würde also dafür sprechen, daß die Synapsis nichts mit der Chromosomenkonjugation zu tun hat. 2. Die »Repulsion« der Chromosomen ist am größten bei dem »Art«-Bastard, während eine Anzahl von Chromosomen des »Gattungs«-Bastardes gegenseitige Affinität besitzen. 3. Selbst der »Rasse«-Bastard zeigte noch Chromosomen-»Repulsion«. — Ebensowenig wie bei den *Pygaera*-Bastarden konnte Verf. irgend etwas beobachten, was auf eine Chromosomen-Eliminierung schließen ließe. F_2-Tiere konnten nicht erhalten werden, da die ♀, offenbar, weil sie nicht lebensfähig sind, bald zu Grunde gehen. Auch die Rückkreuzungen gelangen nicht. — Aus dem theoretischen Teil sei erwähnt, daß Verf. sich die komplizierten Chromosomenverhältnisse von *Oenothera gigas* infolge von Biotypen-Kreuzungen entstanden denkt, bei denen völlige oder partielle Chromosomenrepulsion stattgefunden hat. Ganz allgemein glaubt Verf. in dem Grade der Chromosomenrepulsion bei Kreuzungen ein Maß für den Verwandtschaftsgrad erblicken zu dürfen. —

Zu letzterem Punkte muß indessen bemerkt werden, daß gerade die *Smerinthus*-Bastarde diese Auffassung nicht ohne weiteres stützen (vgl. obige Tabelle). Ungeklärt bleibt vorläufig auch noch die auffallende Tatsache, daß die ♀ aus einer bestimmten Kreuzung im Gegensatz zu den ♂ nicht lebensfähig sind. Sollte diese Erscheinung Hand in Hand mit einer noch abnormeren Chromosomenrepulsion wie bei den ♂ gehen, so müßte die Auffassung, daß der Grad der »Repulsion« vom Grade der Verwandtschaft bestimmt wird, wohl modifiziert werden. Der Untersuchung der Ovogenese darf von diesem Gesichtspunkte aus mit Spannung entgegengesehen werden.

v. Kemnitz (München).

Cowdry, C. V., The Development of the cytoplasmic constituents of the Nervecells of the Chick. In: The American Journal of Anatomy. Vol XV. Nr. 4. p. 389—430. 5 Plates. 1914.

Die vorliegende Untersuchung setzt sich mit einer der brennendsten Fragen der Mitochondrienforschung auseinander: Der Frage der Entstehung der Neurofibrillen. Nachdem Meves (08) rein theoretisch für die Entstehung der Neurofibrillen aus Chondriokonten eingetreten war, wurde die Theorie durch Hoven (10) in einer Untersuchung an Hühnerembryonen im Sinne von Meves bestätigt. Aber schon Duesberg (12) verhält sich dieser Frage gegenüber zurückhaltend und die vorliegende Untersuchung beweist, daß die Auffassungen und Angaben von Meves und Hoven unrichtig sind: Die Neurofibrillen entstehen nicht aus Chondriokonten. Verf. zeigt das — ebenfalls an Hühnerembryonen —, indem er jeweils Stadien gleichen Alters einerseits mit dem Mitochondrienfärbemittel andrerseits mit spezifischen Neurofibrillenfärbungen (Cajal, Bielschowsky usw.) behandelt. Auf diese Weise konnte der Prozeß der Fibrillenbildung, unter Zuhilfenahme von Vitalfärbungen, genau verfolgt werden. Dabei ergibt sich nun Folgendes: Die ersten Andeutungen von Neurofibrillenbildung treten als eine Differenzierung der Grundsubstanz in Embryonen auf, die 15 Somiten besitzen und 40 Stunden bei 39° gehalten wurden. Die Mitochondrien sind bei der Differenzierung durchaus unbeteiligt, was besonders aus folgenden Tatsachen hervorgeht, 1. Mitochondrien finden sich zwar reichlich in den Nervenzellen, nehmen aber keineswegs an Zahl ab, wenn die Neurofibrillen entstehen, 2. die Mitochondrien zeigen auf keinem Stadium irgend eine Affinität zu den spezifischen Neurofibrillenfärbungen, verhalten sich vielmehr bezüglich ihrer Färbbarkeit und Morphologie ebenso wie die der Meso- und Entodermzellen. — Wie bereits erwähnt entstehen die Neurofibrillen als eine Differenzierung der Grundsubstanz und zwar zunächst in unmittelbarer Umgebung des Kerns, so daß es Verf. wahrscheinlich erscheint, daß der Kern in irgend einer Weise an der Fibrillenbildung Anteil hat. Die Mitochondrien dagegen hält er für Zellorganellen sui generis. (Verf. vertritt demnach eine ähnliche Auffassung wie Levi und sein Schüler. Ref.) — Nunmehr haben das Wort wieder die Vorkämpfer der Mitochondrienlehre!

v. Kemnitz (München).

C. Oppenheimer, Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere. Verlag Gustav Fischer, Jena. Ergänzungsband. 746 S. 33 Abb. 1913. Geb. M. 28.50.

Den hier vorliegenden Ergänzungsband des groß angelegten Oppenheimerschen Handbuchs muß man wohl, seinem Inhalt nach als den vielseitigsten und anregendsten der bisher erschienenen Bände besonders für den bezeichnen, der sich für Fragen der allgemeinen Biologie interessiert, ohne dabei selbst physiologischer Chemiker zu sein. Aus dem reichhaltigen Inhalt sei hier zunächst auf einige Kapitel hingewiesen, die das besondere Interesse aller Biologen beanspruchen dürfen: »Blutkörper, Spermatozoen« von A. Kanitz, »Die Eigenschaften des roten Blutfarbstoffes« von Franz Müller, »Oxydationsprozesse in der lebenden Substanz« von A. Bach, »Der Gaswechsel der Organe, Gewebe und isolierten Zellen« von A. Loewy, »Biochemie der Haut« von Unna und Golodetz, »Über fetale Hormone« von B. Wolff, »Der Zuckerumsatz der Zelle« von C. Neuberg usw. usw. — Ich werde mich im Folgenden bemühen, dem Leser mittels einiger Stichproben aus den genannten Abschnitten eine Vorstellung von der Reich-

haltigkeit des Stoffes zu geben. — In dem Kapitel über »Blutkörper« usw. bespricht Kanitz die Befunde Henzes über den Vanadiumgehalt der Blutkörper bei Ascidien, die Hamburgers über den Ca-Gehalt der Blutkörper des Rindes, die Frage des Zuckergehaltes der Blutkörper usw. Franz Müller behandelte die mit der Barkroftschen Methode gewonnenen Resultate bezüglich der Sauerstoffbindung des Hämoglobins. Von hohem Interesse ist das folgende von A. Bach behandelte Kapitel über die Oxydationsprozesse in der lebenden Substanz. Dieses verwickelte und in vielen Punkten noch so kontroverse Gebiet hat hier eine glänzende Darstellung gefunden. In dem von Loewy bearbeiteten Abschnitte über den Gaswechsel interessiert besonders eine zusammenfassende Darstellung der Untersuchungen O. Warburgs. Der Cytologe wird für seine Zwecke die größte Anregung erfahren durch Lektüre des Artikels von Unna und Golodetz über die »Biochemie der Haut«, die hier eine knappe Darstellung ihrer Untersuchungen über »Sauerstoff- und Reduktionsorte« in der Zelle gegeben haben. In dem Abschnitte über »Fetale Hormone« von B. Wolff fällt angenehm auf, daß Verf. bei Behandlung der Frage der inneren Sekretion der Geschlechtsdrüsen auch die Untersuchungen an Wirbellosen (Meisenheimer, Kopec usw.) in den Kreis seiner Betrachtungen gezogen hat. — Zum Schluß sei noch auf den Artikel von C. Neuberg über den »Zuckerumsatz der Zelle« hingewiesen, der eine dem heutigen Stand der Wissenschaft angepaßte Schilderung des Gärungsprozesses der Hefe enthält, dieses Problems, das so einfach es zunächst schien, trotz der Arbeit eines Jahrhunderts noch keine definitive Lösung erfahren hat. — Aber auch die übrigen Abschnitte, auf die hier nicht besonders verwiesen wurde, enthalten eine Fülle des Interessanten und so kann denn die Lektüre des ausgezeichneten Werkes jedem Biologen nicht genug empfohlen werden. **v. Kemnitz** (München).

Max Rubner, Die Ernährungsphysiologie der Hefezelle bei alkoholischer Gärung. 396 Seiten, 40 Figuren. Verlag Veit u. Co., Leipzig. 1913. M. 30.—.

Die vorliegende in Form einer Monographie gehaltene umfangreiche Untersuchung des bekannten Autors verschafft uns auf Grund eigener Untersuchungen des Verf. einen tiefen Einblick in die Lebensprozesse der Hefe, so daß Verf. am Schluß wohl mit Recht sagen kann, daß wir »von diesem mikroskopischen Wesen, der Hefe, jetzt fast mehr wissen, als von der Ernährung mancher höherer Organismen.« — Das Hauptverdienst der Untersuchung besteht wohl darin, daß Verf. die einzelnen chemischen Lebensprozesse der Hefe mit Hilfe einer besonders ausgebildeten Methodik kalorimetrisch auf ihre Wärmetönung hin untersucht hat. Aus der Fülle von Tatsachen, die das Werk enthält, seien hier nur einige wenige herausgegriffen. Es läßt sich auch kalorimetrisch zeigen, daß der Gärungsprozeß in seiner Totalität oder zum Teil Quelle der Lebensenergie der Hefe ist. Die durch quantitative Untersuchungen bereits früher ermittelte Tatsache, daß der nach C. Buchners Angaben gewonnene Preßsaft einer bestimmten Menge Hefe eine ganz erheblich schwächere Wirkung entfaltet als die gleiche Menge intakter Hefe, hat Rubner ebenfalls kalorimetrisch bestätigt. So liefern z. B. 1 g frischer Hefe im Mittel in 24 Stunden 860 g Kal., die »Zymase« aus 1 g Hefe dagegen nur 41 g Kal., also nur 4,6%. Die überwältigende Masse der Zuckerspaltung ist also »Zellwirkung«. Die Menge des Gärungsferments hat auf die Wärmebildung keinen nachweisbaren Einfluß, sofern sich die verwandten Hefemengen zwischen 2 und 10 g halten. Umgekehrt ist auch die Konzentration der Rohrzuckerlösungen ohne Einfluß auf die Wärmebildung, sofern sich diese Konzentrationen zwischen 5 und 20% bewegen. Erst bei weiterer

Abnahme des Rohrzuckergehaltes (2,5%) fällt auch die Wärmebildung und zwar um etwa 11%. Sehr bemerkenswert sind auch die kalorimetrischen Untersuchungen über die Änderungen der Gärkraft der Hefe und die Eigenschaften der »ermattenden« Hefezellen. — Schließlich sei noch auf die besonders interessanten Beobachtungen über die Wärmetönung bei der Glykogenbildung der Hefe hingewiesen. Es zeigt sich dabei, daß die Glykogenbildung unter meßbar negativer Wärmetönung erfolgt, wie zu erwarten. Es ist das der erste Fall, wo ein synthetisierendes Ferment in seiner Wirksamkeit gemessen worden ist. Auf die folgenden Kapitel, die hauptsächlich dem Stickstoffwechsel der Hefezelle gewidmet sind, kann hier nur hingewiesen werden, wie denn überhaupt diese Zeilen nur als ein Hinweis auf das reichhaltige, eine Fülle des Interessanten enthaltende Werk gedacht sind. **v. Kemnitz** (München).

A. Brachet, Action inhibitrice du sperme d'Annélide (*Sabellaria alveolata*) sur la formation de la membrane de fécondation de l'oeuf d'Oursin (*Paracentrotus lividus*). Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences Paris. T. 157. p. 605. 13. X. 13. 4 Seiten.

Die Spermien von *Sabellaria* dringen nicht in die Eier von *Paracentrotus* ein. Läßt man die Eier mit *Sabellaria*-Spermien während einer Stunde in Kontakt, so verlieren sie, selbst nach sorgfältigem Waschen und Entfernen der *Sabellaria*-Spermien, die Fähigkeit eine Befruchtungsmembran zu bilden, wenn sie nunmehr mit *Paracentrotus*-Sperma befruchtet werden. Die Furchungen verlaufen zwar zunächst normal. Auf dem Blastula-Stadium aber treten Anomalien auf, in deren Gefolge die Eier zu Grunde gehen. Trotz des Mangels der Befruchtungsmembran tritt Di- oder Polyspermie höchst selten auf, woraus zu schließen ist, daß die Befruchtungsmembran eine andre Bedeutung hat, als die, eine Mehrfachbesamung zu verhindern. **v. Kemnitz** (München).

E. Fauré-Fremiet, Le cycle germinatif chez l'*Ascaris megalocephala*. Archives d'anatomie microscopique. T. XV. Fasc. IV. p. 435—757. 3 Tafeln, 136 Textfiguren.

Verf. hat es in der vorliegenden, sehr umfangreichen Untersuchung, die in Form einer Monographie gehalten ist, unternommen, den Generationszyklus von *Ascaris megalocephala* beginnend mit der jungen Ovo- und Spermatogonie, endigend mit der Anlage der Geschlechtsdrüsen im Embryo, einer eingehenden morphologischen, mikro- und makrochemischen Untersuchung zu unterziehen. Es liegt in der Natur einer solchen, an einem so vielseitig bearbeiteten Objekt wie *Ascaris megalocephala* angestellten Untersuchung, daß sie die Ergebnisse anderer Untersucher zum Teil weitgehend referierend darstellen muß. Verf. hat sich aber bemüht, selbst sehr genau untersuchte Verhältnisse aus eigener Anschauung kennen zu lernen und nachzuprüfen. Ich werde mich in diesem Referat darauf beschränken, die Ergebnisse, die neu sind, oder mit denen andrer in Widerspruch stehen, wiederzugeben.

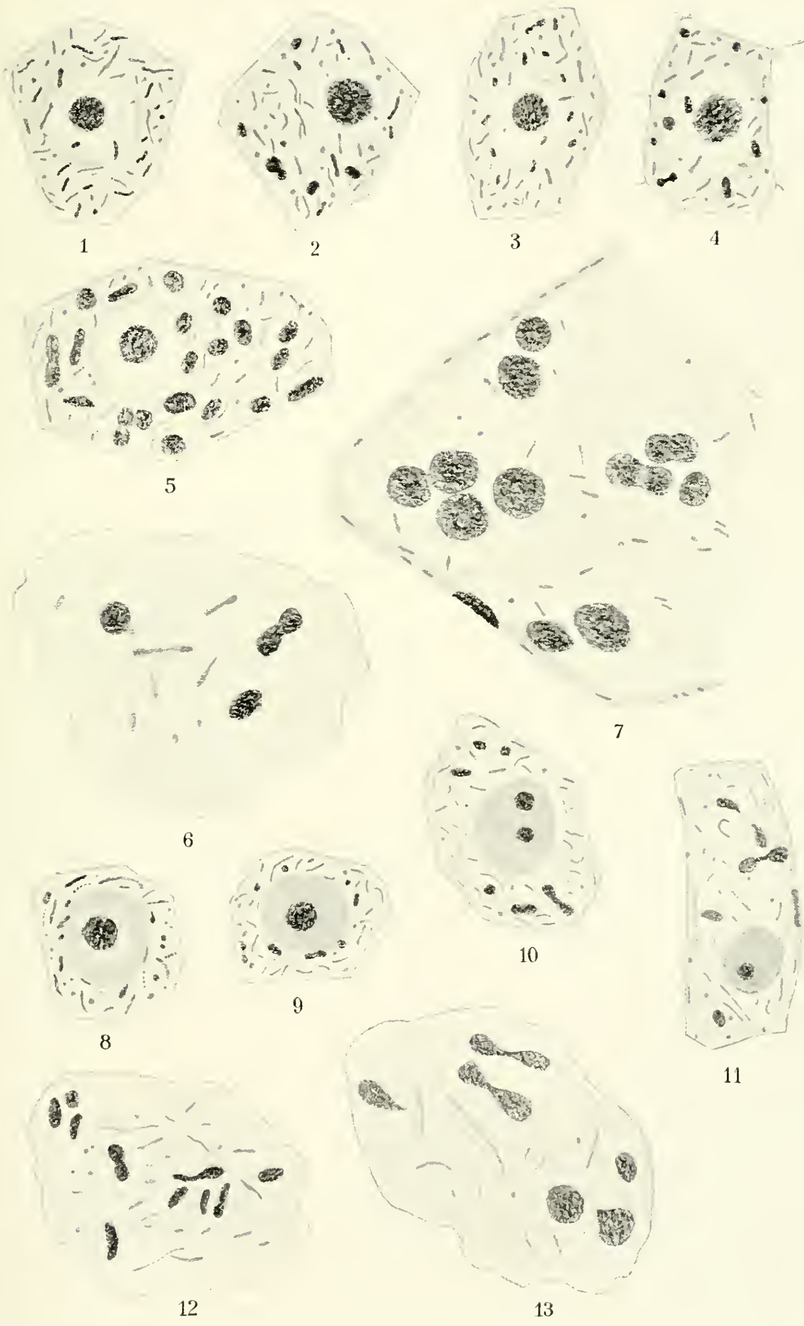
Nach einer kurzen Darstellung der Entwicklung, die die Boverische Beobachtung der Chromatindiminution in Somazellen bestätigt, schildert Verf. den Bau der Geschlechtsorgane und wendet sich dann zu einer Untersuchung der Leibeshöhlenflüssigkeit Im Gegensatz zu Flury (12) findet er etwa 0,2 ‰ Glukose in der Leibeshöhlenflüssigkeit

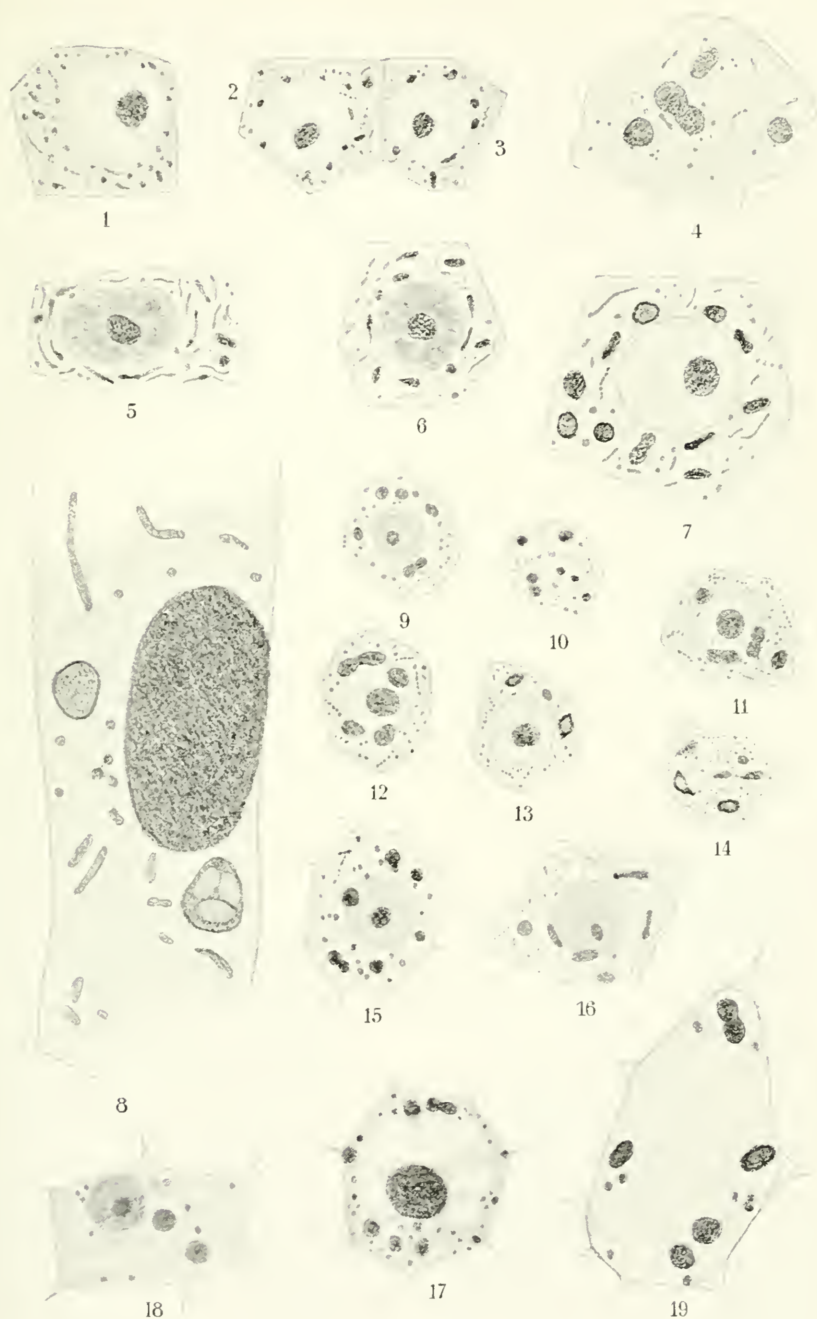
und bestätigt die Flurysche Angabe von der Anwesenheit von Hämoglobin — bzw. Oxyhämoglobin — in der Leibeshöhle und im Darmepithel auf spektroskopischem Wege. Dagegen ist Verf. die wahre Natur der im Darmepithel reichlich vorhandenen stark lichtbrechenden Körnchen entgangen. Er hält sie für Hämoglobin-Derivate, während Quack (13) — deren Arbeit Verf. wohl erst während der Drucklegung erreichte — festgestellt hat, daß diese Körnchen aus Gips bestehen. Es folgt eine Schilderung der intimeren Strukturen der gonialen Keimzellen. Das blinde Ende der Geschlechtsdrüsen ist verdickt und enthält ein Syncitium. Im Plasma finden sich reichlich Mitochondrien, nie aber Chondriokonten. In Ovo- und Spermatogonien, sowie in die Rachis sind Fettkügelchen eingelagert, die sich mit Sudan III färben und Osmiensäure reduzieren, mikrochemisch also als ein gewöhnliches Triglycerid, mit zum mindesten einem Ölsäurerest zu charakterisieren sind. — Besonders beim Weibchen findet sich z. Z. der Ovogonienteilungen eine merkwürdige Anomalie, die Verf. als »abortive Parthenogenese« bezeichnet. Einzelne Ovogonien teilen sich amitotisch, ohne daß vollkommene Plasmateilung erfolgt. Die Zellen bleiben vielmehr in einem gewissen Connex miteinander. Auf diese Weise entstehen Zellhaufen, die im Innern eine Höhle enthalten und an Blastulae erinnern. Schließlich gehen diese Bildungen zu grunde. Es folgt die Schilderung der Wachstumsperiode, zunächst des Eies. Von Interesse sind hierbei besonders die Untersuchungen über die chemische Natur der Mitochondrien. Mit Sudan III färben sie sich schwach rosa. Von Vitalfarbstoffen wird Dahliaviolett stark adsorbiert, dagegen Osmiumsäure selbst bei 60° nur schwach reduziert. Nach Chromierung färben sich die Mitochondrien besonders mit Orange-G. und Säurefuchsin. Die makrochemische Untersuchung, deren Methodik Ref. nicht ganz einwandfrei scheint und darauf beruht, daß das Mitochondriumlipoid sich angeblich nur in 60—80% Alkohol und Chloroform, nicht aber oder nur schwach in Abs. Alkohol, Chloroform, Äther und Aceton löst, lehrt, daß es sich um ein Phosphatid handelt (gelber Niederschlag von Phosphor-Molybdän), nicht aber um Lecithin (vgl. Methodik). Alles in Allem dürfte es sich bei den Mitochondrien um eine Verbindung von Mitochondrien mit Eiweiß handeln. Die Glykogenbestimmungen im Ovar hat Verf. durch Inversion des Glykogens mit Salzsäure und quantitative Bestimmung des so erhaltenen Zuckers durchgeführt. (Zuverlässiger scheint Ref. die direkte Bestimmung nach Brücke-Külz). Auf diese Weise wurden im Mittel 21% Glykogen bezogen auf getrocknetes Ovar gefunden. Zum mikrochemischen Nachweis benutzt Verf. ausschließlich Jod. Die vom Ref. (12) angewandte Bestsche Methode scheint Verf. — wohl mit Unrecht — als nicht genügend zuverlässig. Weiterhin untersucht Verf. die bereits von Flury (12) studierte ätherartige Substanz der Ascariden. Mikrochemisch läßt sich die Substanz nur an Gefrierschnitten oder Zupfpräparaten studieren. Sie reduziert Osmium nicht, wird aber durch Sudan III und Naphtolblau gefärbt, häufig tritt sie in Form kristallinischer Massen im Plasma auf, die meisten Fettlösungsmittel lösen sie leicht in der Wärme. Es handelt sich offenbar um dieselbe Substanz, die Flury vorgelegen hat und die entweder eine gewöhnliche hochmolekulare Fettsäure (Fauré-Fremiet) von der Brutto-Formel $C_{20}H_{40}O_2$ repräsentiert, oder eine Oxysäure, die zugleich Säure und Alkohol ist von der Formel: $C_{32}H_{64}O_4$ (Flury). Es verdient besonders erwähnt zu werden, daß dieser Körper anscheinend in andren Geweben fehlt und überhaupt ausschließlich beim Weibchen vorkommt. In den Ovocyten finden sich ferner reichlich Kalkphosphate in Form von Kugeln. Die Substanz in Lösung gibt mit Oxalsäure einen Niederschlag von oxalsaurem Kalk, mit Molybdänsäure einen solchen von phosphorsaurem Molybdän, außerdem die Biuretreaktion. Der Körper enthält demnach Eiweiß. In der reifen Ovocyte sammeln sich diese Kalkphosphatkugeln zusammen mit

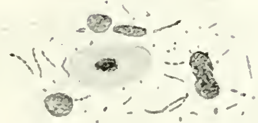
Kriställchen jenes Säurealkohols in der Mitte des Eies. Die Bildung der chitinösen Membran des Eies, geht auch ohne Befruchtung vor sich, was Verf. besonders mit Hilfe des Ultramikroskops an einer jungfräulichen *Ascaris* beobachtete. Behandlung der unbefruchteten Eier nach der Methode von Loeb mit Essigsäure oder Buttersäure schwacher Konzentration hat keinen erkennbaren Einfuß. — Die nun folgende Darstellung der Chromosomenverhältnisse der Ovocyte ist etwas kursorisch ausgefallen. Die Arbeit von Blankertz (11) ist Verf. entgangen. Er betrachtete den ringförmigen Körper als somatisches (»Tropho-«)Chromatin, im Gegensatz zu den Chromosomen, die das eigentliche generative (»Idio«-)Chromatin enthalten. Das führt ihn natürlich zur Annahme der Hypothese von der Doppelkernigkeit der Zellen. — Es folgt die Behandlung der Wachstums- und Reifungserscheinungen innerhalb der Spermatogenese. Ebenso wie Ref. (12) findet Verf. in den Spermatocyten kein Glykogen. Eine eingehende Untersuchung hat Verf. den »Glanzkugeln« gewidmet. Mikrochemisch verhalten sie sich wie folgt: Unlöslich in allen Fettlösungsmitteln, löslich in heißem Wasser, färbbar mit den meisten Vitalfarbstoffen (Dahliaviolett, Neutralrot, Methylenblau usw.), nicht färbbar mit Sudan III und Scharlach. Die Substanz läßt sich durch geeignete Behandlung (Methode im Original) isolieren und zeigt makrochemisch folgende Eigenschaften: Sie gibt die Millonsche und die Biuretreaktion, löslich in Laugen, unlöslich in Säuren, sie wird durch sämtliche eiweißfällende Mittel gefällt, der Gehalt an N. beträgt 17.5%. Es handelt sich demnach um eine nicht näher zu definierende eiweißartige Substanz, die Verf. als »Ascaridin« bezeichnet. Die Beschreibung der Chromatinverhältnisse der Spermatogenese einschließlich der Reifeteilungen füllt nur eine Seite! Verf. hält auch für die Spermatogenese die Existenz eines »Amphikaryons« für sicher und meint, daß die Reifeteilungen ja gut bekannt seien, eine Auffassung, die Ref. nicht teilen kann! Bezüglich der Spermiogenese kommt Verf. wieder auf die alte van Benedensche Auffassung, daß die Ausbildung der Spermatiden erst im Weibchen erfolge, zurück, da er niemals reife Spermien im Vas deferens des Männchens finden konnte. Die keinen Zweifel zulassenden entgegengesetzten Beobachtungen des Ref. (12) sind Verf. unbekannt geblieben. Es folgen Beobachtungen über die Befruchtung. Zunächst solche chemischer Natur über die Eischale. Diese besteht aus echtem Chitin (?Ref.), da sie in kochender Lauge unlöslich ist, durch Salzsäure aber hydrolisiert wird. Das erhaltene Glukosamin, bzw. die Glukose kann durch die Steudelsche Reaktion, bzw. durch Glukosazonbildung diagnostiziert werden. Die Glykogenbestimmungen in befruchteten Eiern ergeben, daß nach Eindringen des Spermiums etwa $^4/_5$ des Glykogens verschwunden sind. Es folgen einige wiederum etwas »kursorisch« gehaltene, nichts neues bringende Bemerkungen über das Verhalten von Chromosomen und Mitochondrien, während Befruchtung und Richtungskörperbildung. Merkwürdigerweise wird hierbei, besonders bei der historischen Übersicht, der Name Boveris überhaupt nicht genannt! — Verf. wendet sich nun der Behandlung der Embryogenese zu, wobei zunächst Angaben über den Verlust von Trockensubstanz während der Furchung gemacht werden. Dieser beträgt im Mittel 5,7% (in welcher Zeit? Ref.). Es folgen mehr schätzungsweise angestellte Beobachtungen über den Gaswechsel. Der respiratorische Quotient der Eier während der Furchung beträgt etwa 0,88. Wenn seine Bestimmung auch mit sehr beträchtlichen Fehlerquellen behaftet ist, so glaubt Verf. doch schließen zu dürfen, daß die Reservestoffe im Ascarisei total bis zu CO_2 und Wasser verbrannt werden, die Entwicklung also oxybiotisch verläuft, was auch mit den morphologischen Befunden bei Sauerstoffentziehung und denen früherer Autoren (Hallez und Bataillon) übereinstimmt. Verf. hat auch versucht, sich experimentell mit der Loebschen Hypothese der Nukleinsynthese aus dem Plasma auseinander zu setzen.

Zu diesem Zweck hat er auf dem 2-Zellenstadium und im Embryo bestimmt: 1. Die gesamte Phosphormenge, 2. den Phorphor der Lipoide (im Acetonniederschlag). 3. den Phosphor der mineralischen Phosphate. Die Differenz 1—(2 + 3) gibt nach Verf. den Phosphorgehalt der Kerne an. Auf diese Weise konnte Verf. feststellen, daß der Phosphor der Lipoide im Embryo gegenüber dem 2. Zellenstadium eine kleine Zunahme erfahren hat, also das Gegenteil von dem, was nach Loeb zu erwarten ist. (Leider gibt Verf. hierüber keine genauen Zahlen. Auch scheint mir die Methodik keineswegs einwandfrei, so daß aus diesen gewiß sehr interessanten Versuchen allein — allerdings hat Schakell (11) bei *Arbacia* ähnliche Resultate erhalten — wohl noch nicht der »Ruin« der Loebschen Theorie folgt, zumal wo morphologisch eine Zunahme des Gesamtchromatins am Ende der Furchung gegenüber dem 2-Zellenstadium erwiesen ist. Wichtiger erscheinen mir zum Entscheid dieser Frage die Befunde Masings (10), die Verf. anscheinend nicht kennt. Ref.). — Es folgen nun interessante Beobachtungen über experimentelle Beeinflussung der Furchung. Aus Eiern, die in sauerstoffarmer Atmosphäre gehalten wurden, resultieren Keime, bei denen die Blastomere S_1 kernlos ist, P_1 dagegen enthält 16 schleifenförmige Chromosomen! Nach Rückversetzung unter normale Bedingungen resultiert aus den Derivaten von P_1 ein anscheinend normaler Embryo. — Bei der Untersuchung von Eiern, die mit Radium und X-Strahlen bestrahlt wurden, kommt Verf. zu im wesentlichen denselben Resultaten, wie P. Hertwig (11) und Payne (13). Während die Somazellen verhältnismäßig wenig unter der Bestrahlung leiden, werden Kerne, die die Diminution noch nicht durchgeführt haben und sich im Stadium der Äquatorialplatte befinden, derart geschädigt, daß sowohl ihre somatische, wie ihre generative Descendenz beträchtliche Anomalien aufweist. Verf. hat auch eine Nachprüfung der Centrifugierungsversuche von Boveri und Hogue unternommen und dabei morphologisch festgestellt, daß der »Granulaball« der Hauptsache nach aus Mitochondrien besteht, woraus angesichts der Versuche Boveris zu schließen ist, daß diese weder für die Furchung, noch für die erste Differenzierung unentbehrlich sind. Im letzten Kapitel beschäftigt sich Verf. mit der Funktion der Wandungszellen im männlichen und weiblichen Geschlechtsapparat. Übereinstimmend mit früheren Autoren beobachtet er die Phagocytose der »Zwischenkörperchen« durch die Wandzellen des Hodens und verbreitet sich dann über die Aufnahme nicht zur Befruchtung gelangter Spermien durch das Uterusepithel, wobei ihm abermals entgangen ist, daß Ref. (12) und Romeis (12) diese Verhältnisse bereits eingehend untersucht haben. — Ganz allgemein ist es überhaupt zu bedauern, daß Verf. bei der Niederschrift seiner Untersuchung, die noch eine Menge interessanter Details enthält, die deutsche Literatur recht stiefmütterlich behandelt hat.

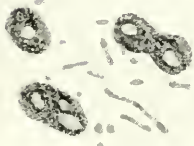
Mai 1914. **v. Kemnitz** (München).

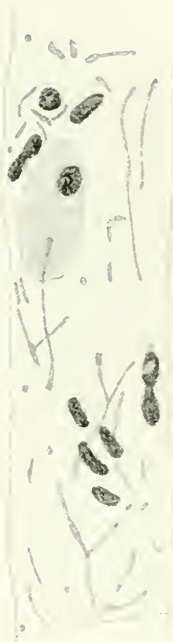

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13

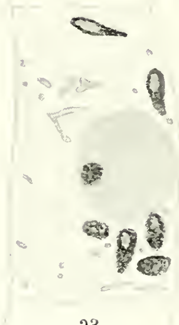

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19

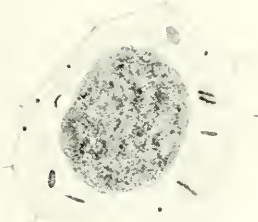

20

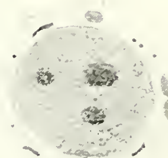

21

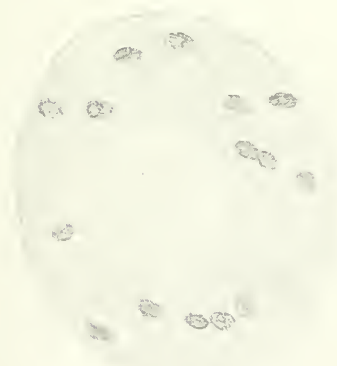

22

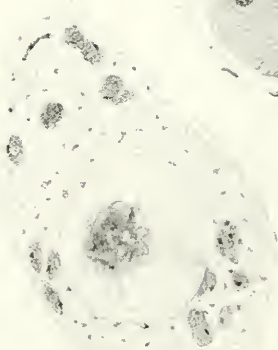

24

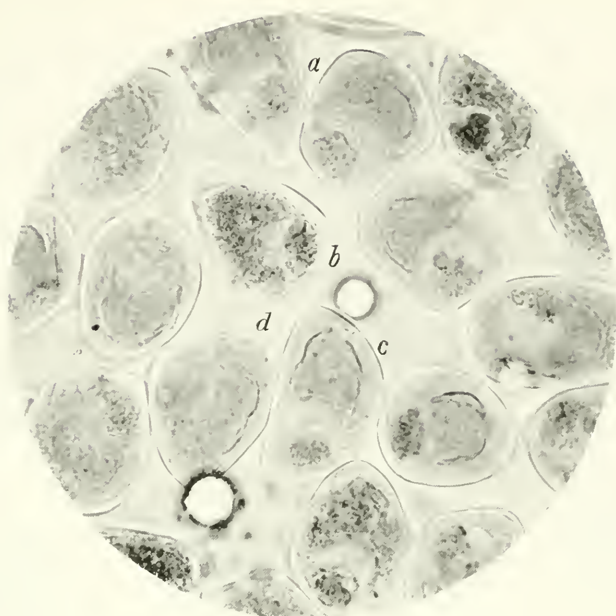

23


27 b

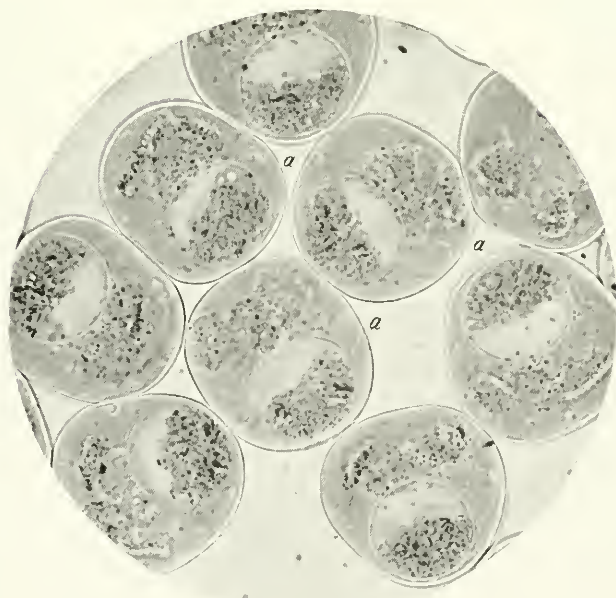

27 a


26

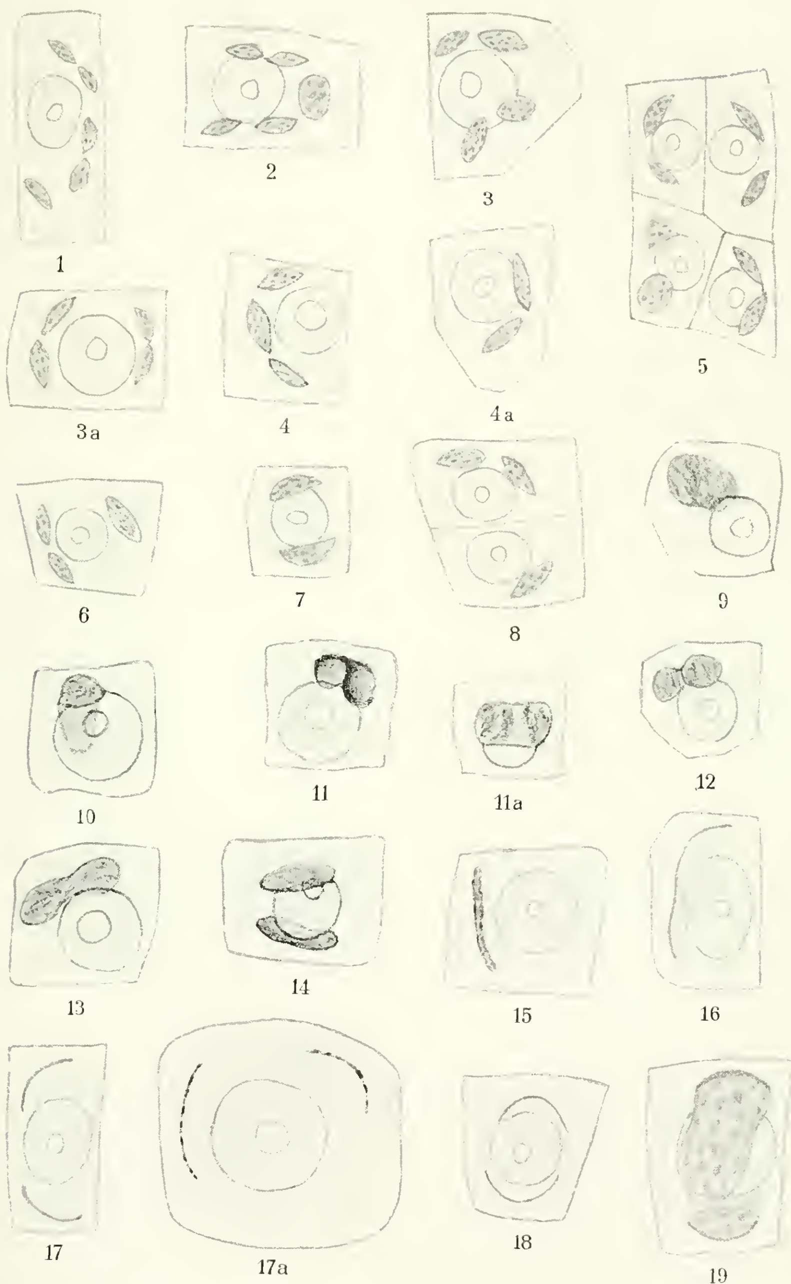

25



1



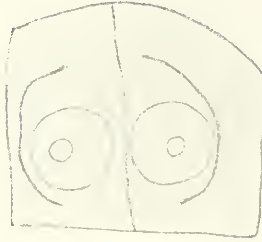
2

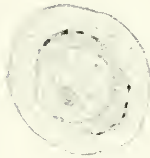


Sapěhin.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.


20


21


22

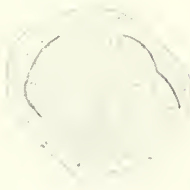

23


24


25


26


27


28


28 a


28 b

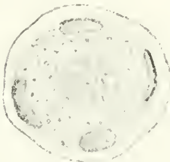

29


30


30 a


30 a


31


31 a

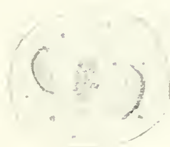

32


33

Sapèhin.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.


34


35


36

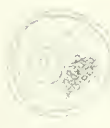

37


38


39

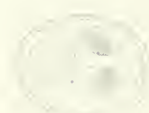

39a


40


41


42

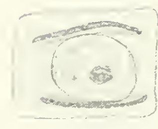

42a


43


44


45


46


14a

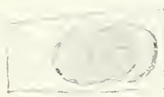

3a


1


2


3


4


5


5a

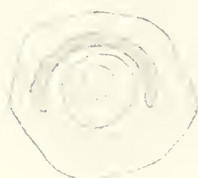

5b


5c

Sapěhin.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

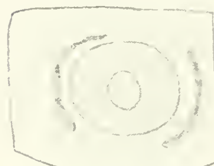

6

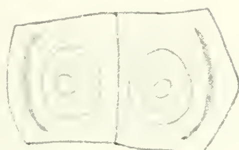

7


7a


8

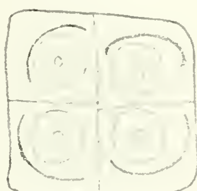

9


10


11


12

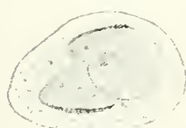

13


14

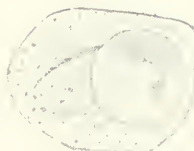

15

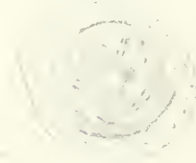

15a

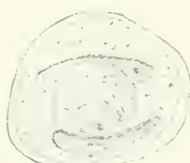

15b

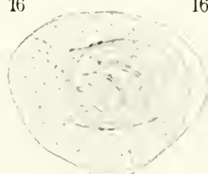

15c


16


16a

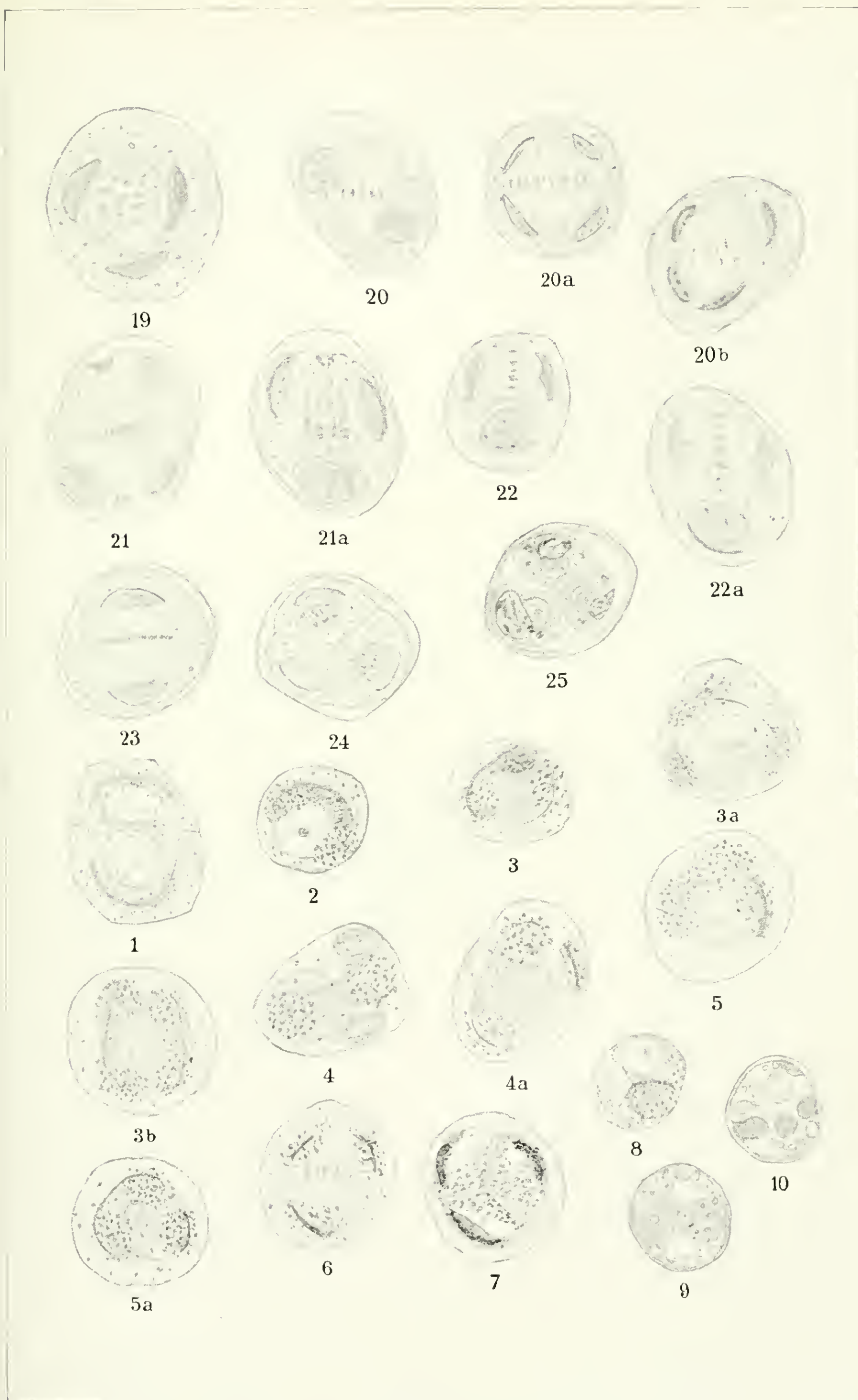

17


17a

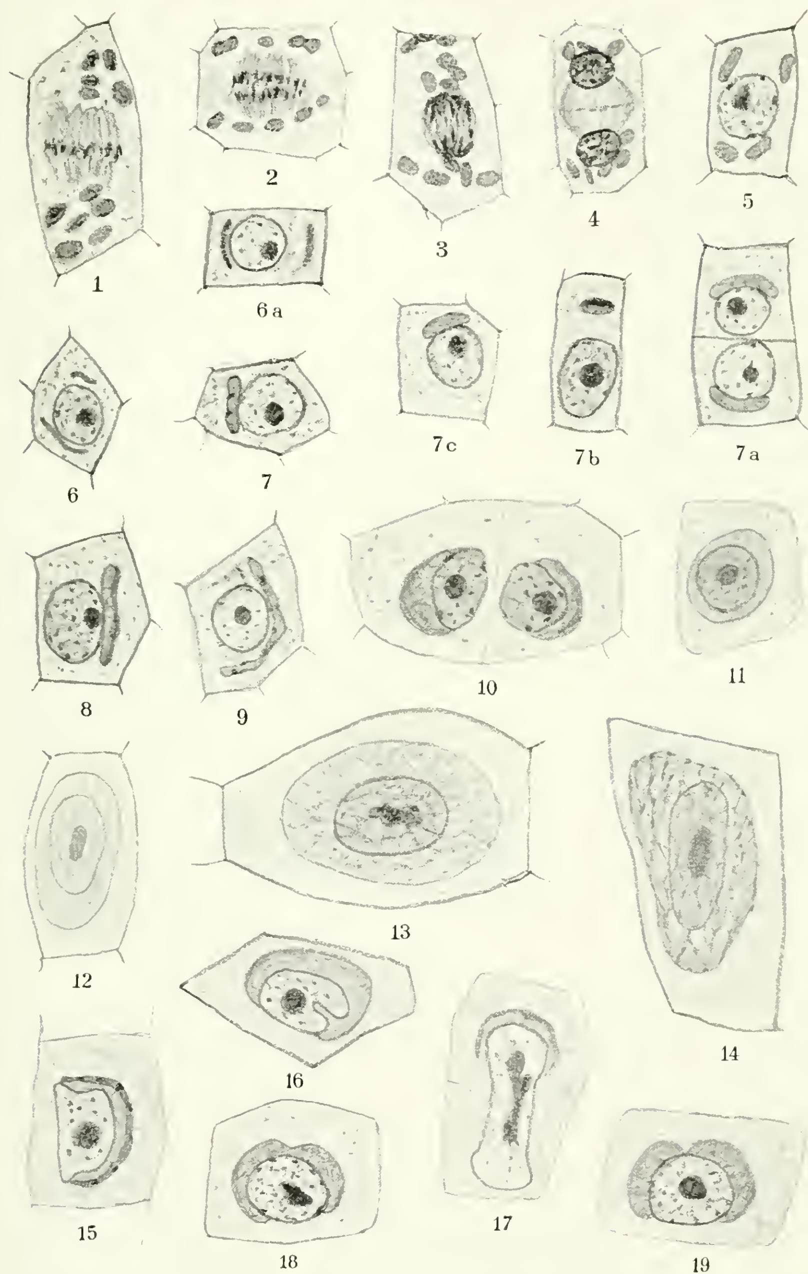

17b


18

Sapèhin. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

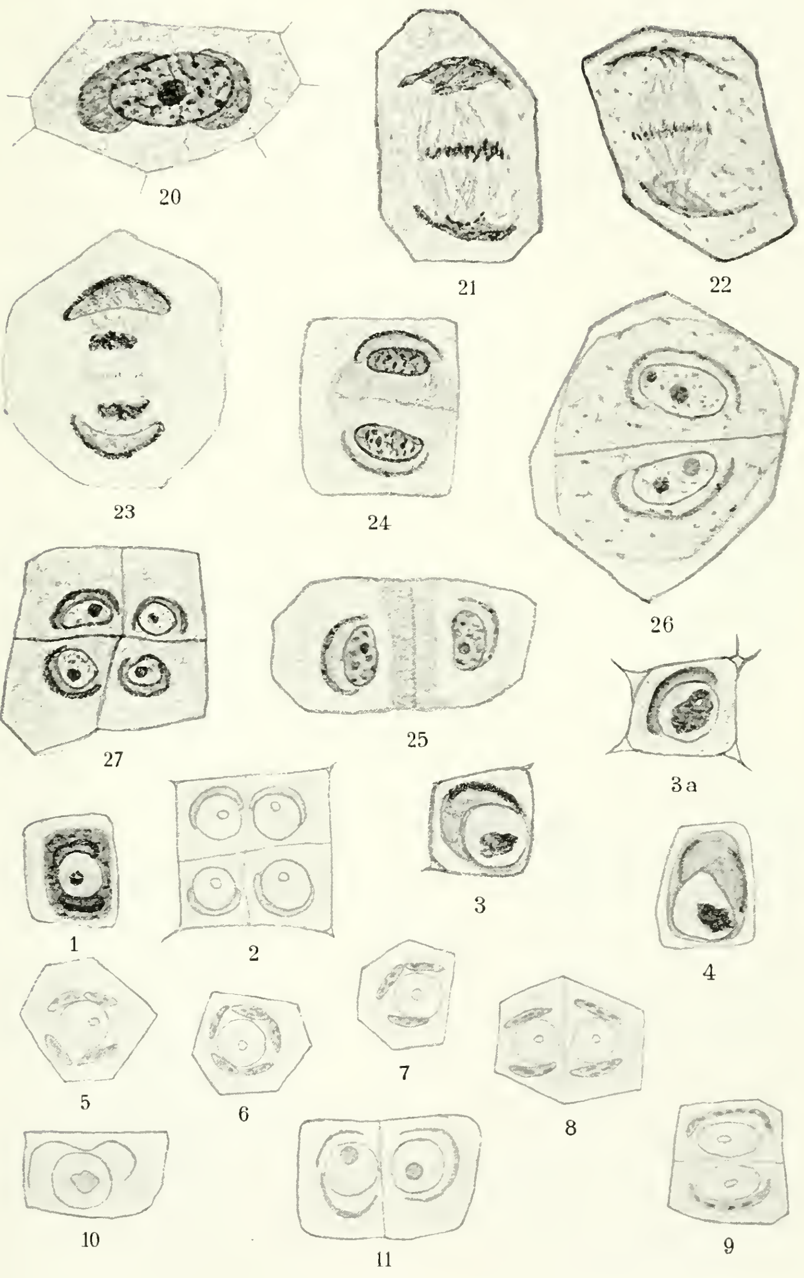


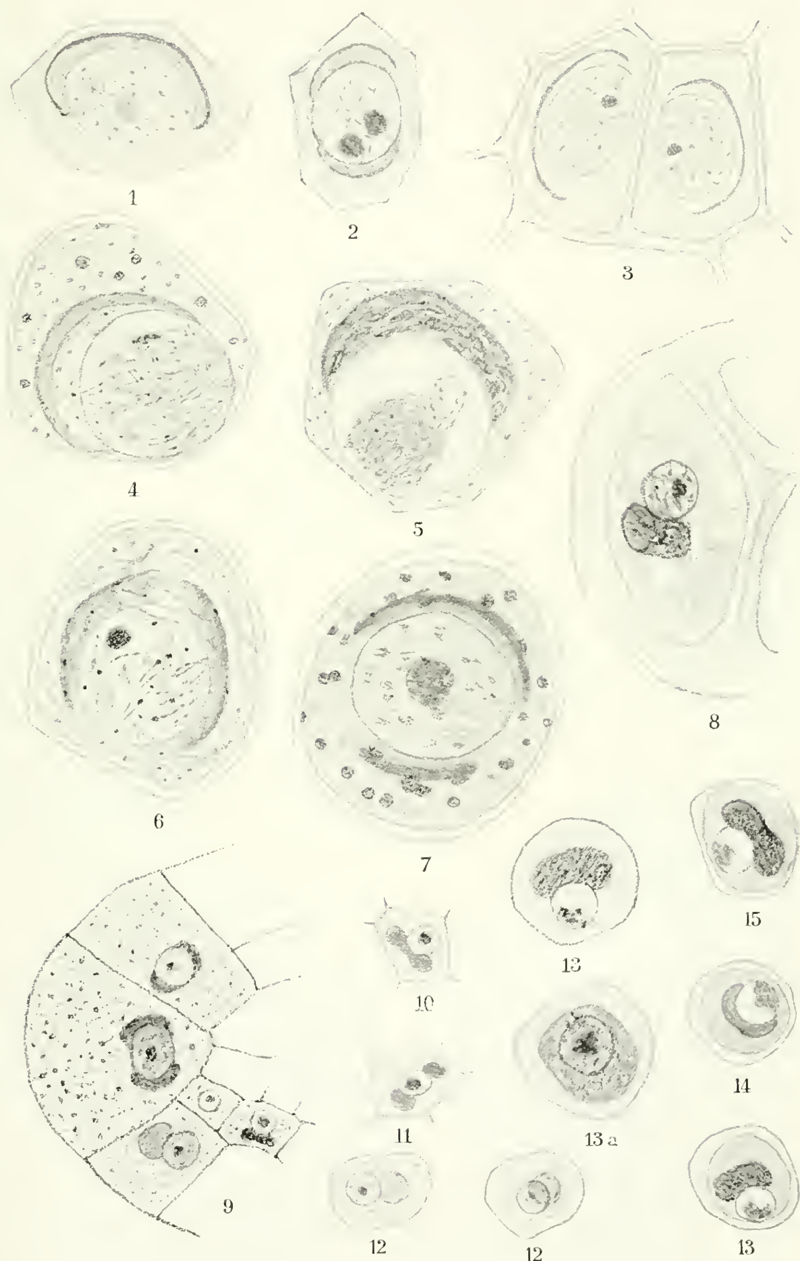
Sapěhin. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.



Sapěhin.

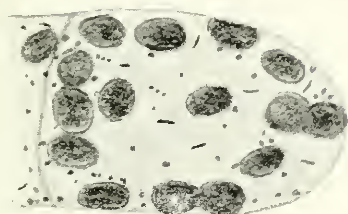
Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.


20
21
22
23
24
26
27
25
3a
1
2
3
4
5
6
7
8
10
11
9

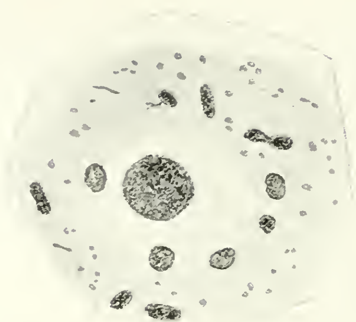

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
12
13
13
13 a
14
15



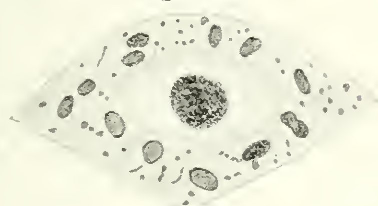
Sapěhin. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.



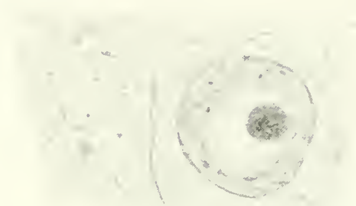
1



2



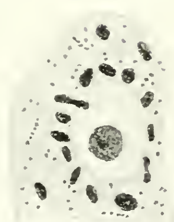
3



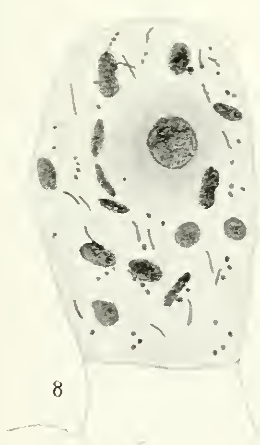
7



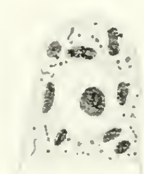
6



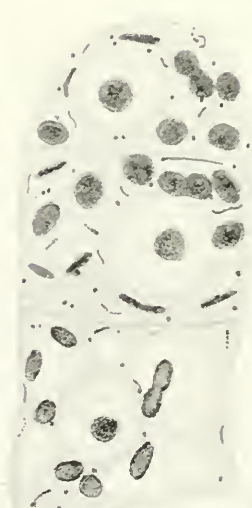
4



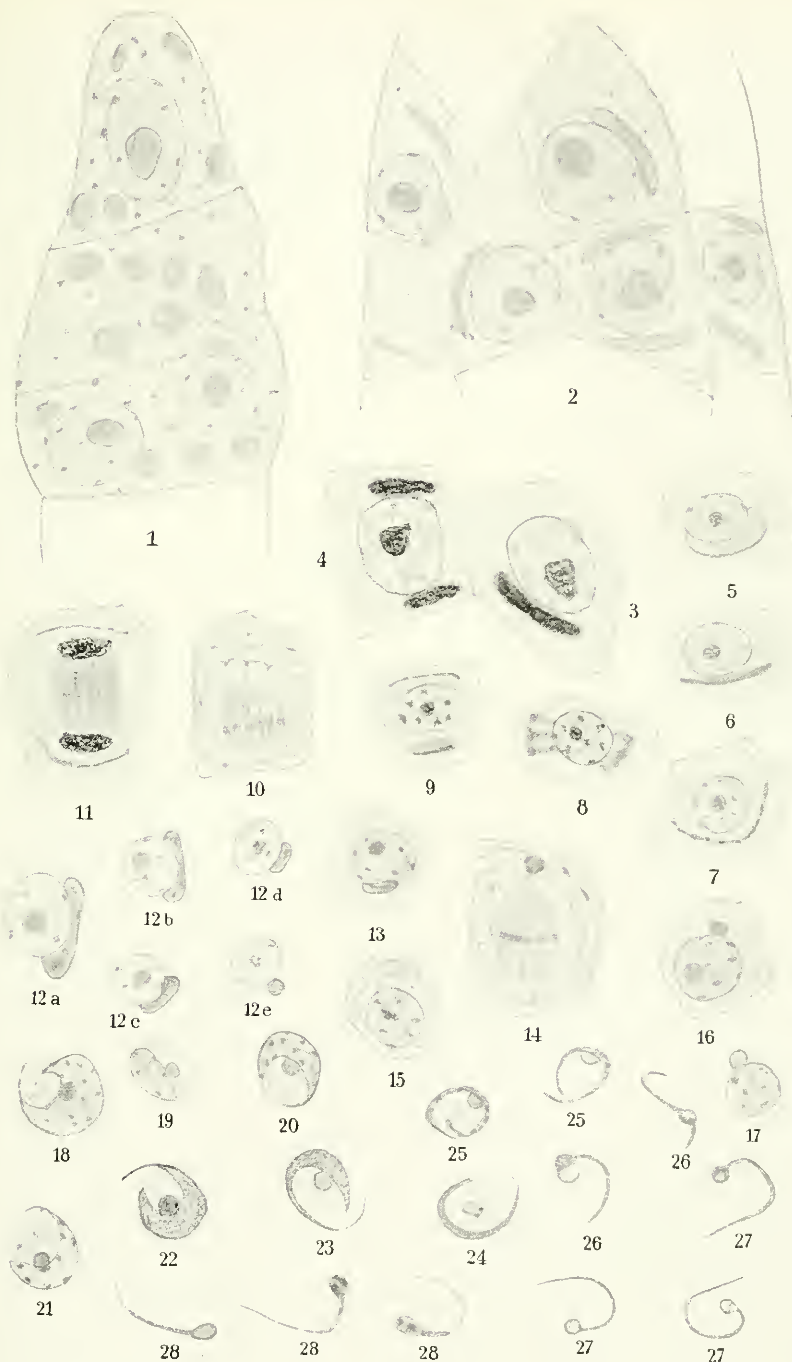
8

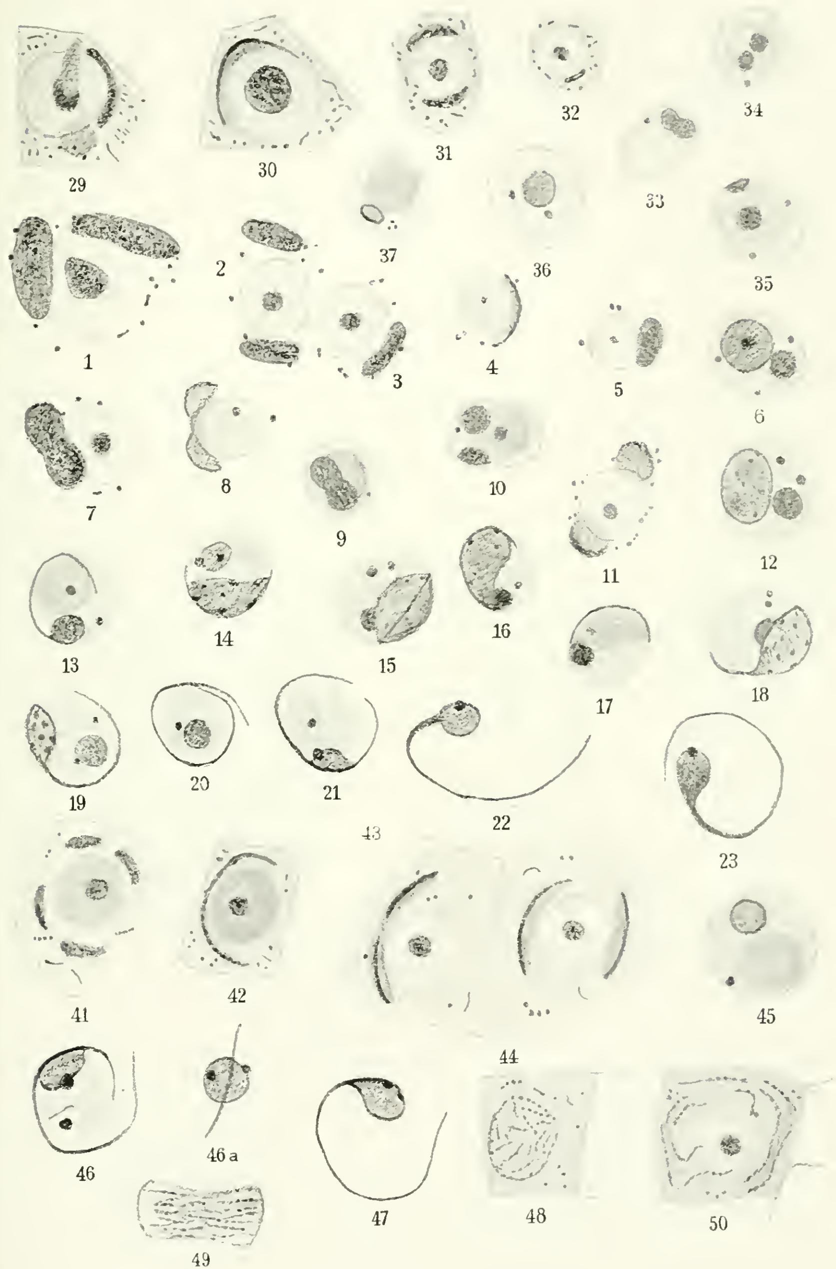


5



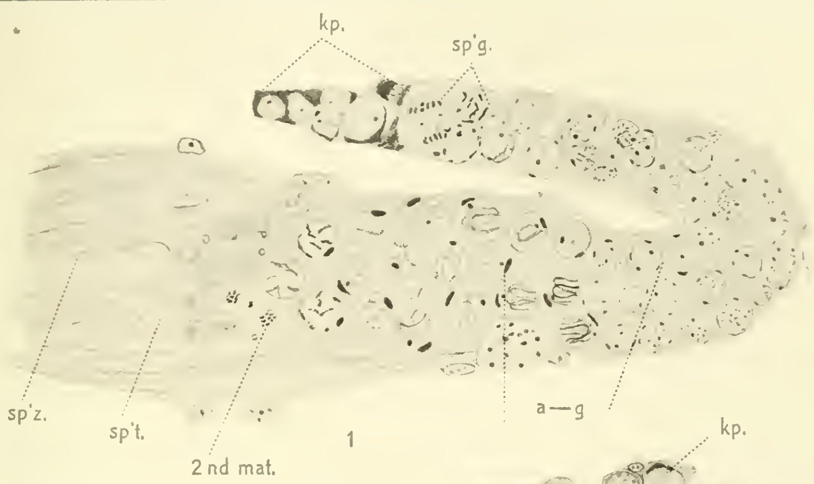
9


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12 a
12 b
12 c
12 d
12 e
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
25
26
26
27
27
27
27
28
28
28

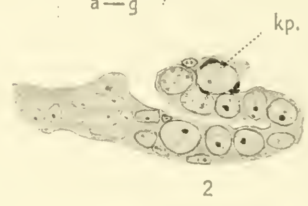


Sapěhin. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

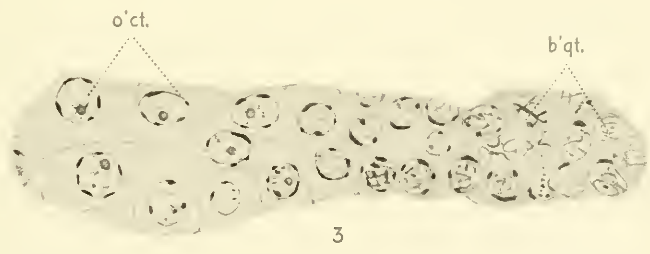

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
23
22
21
20
19
24
25



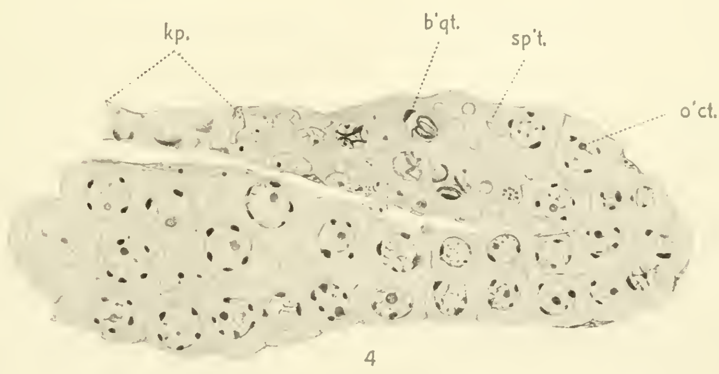
1



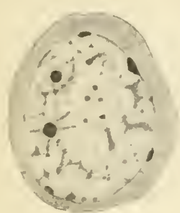
2

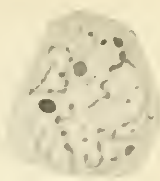


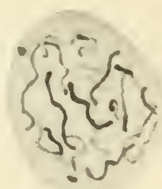
3

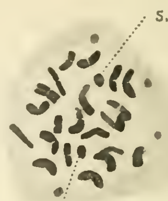


4

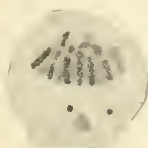

5

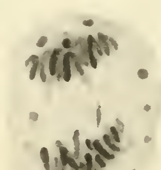

6

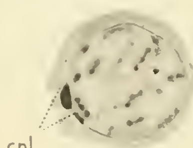

7



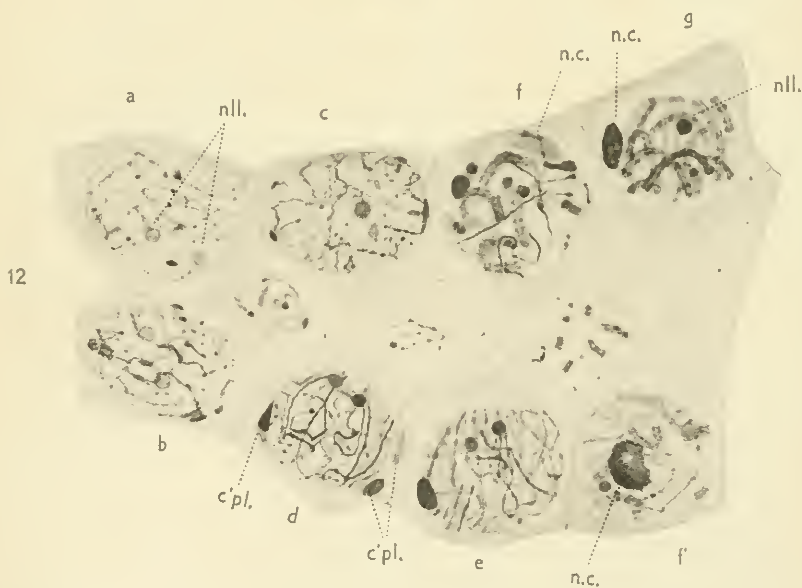
8


10

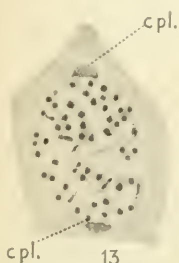

9



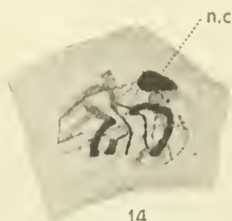
11



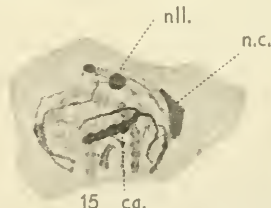
12



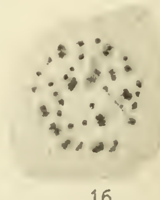
13

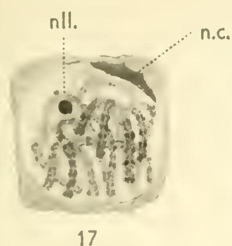


14

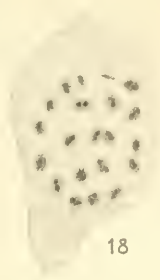


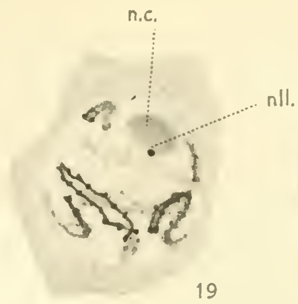
15


16

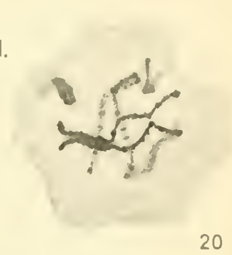


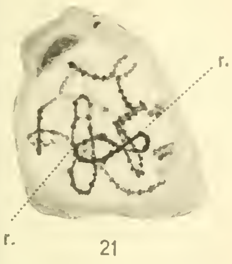
17


18

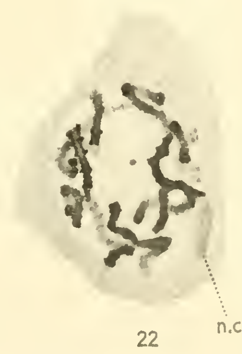


19


20



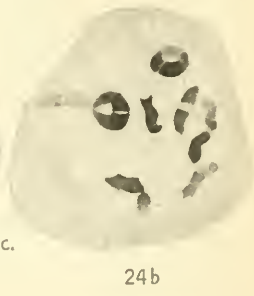
21



22

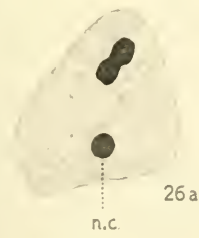


24 a


24 b



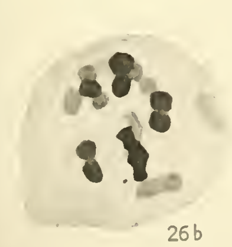
23



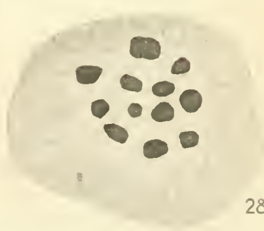
26 a



25

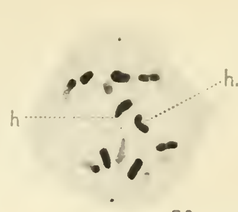

26 b


27

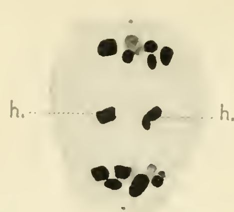

28



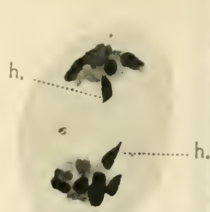
29



30



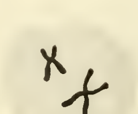
31



32



33 a



33 b



34



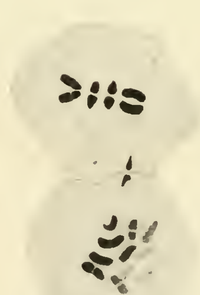
35



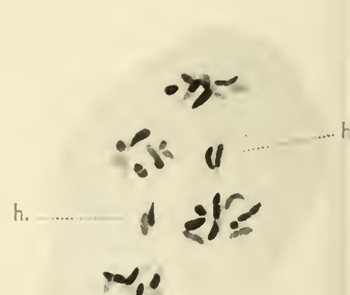
36



37



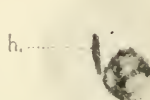
38



39



40



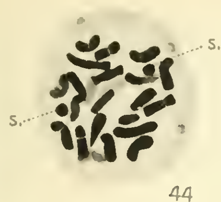
41



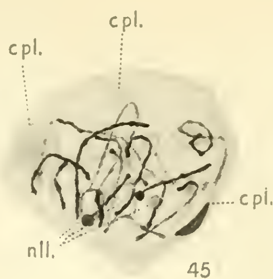
42



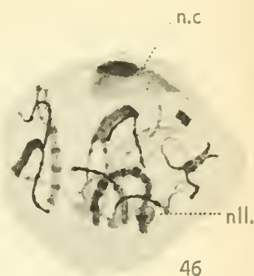
43



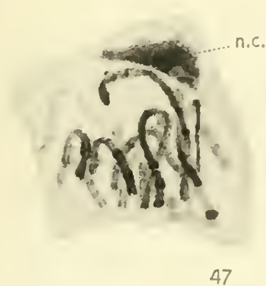
44



45

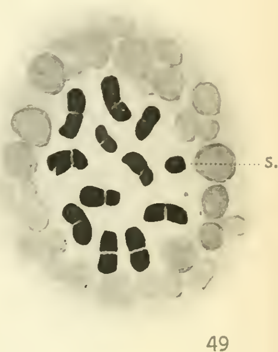


46

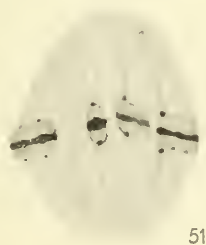


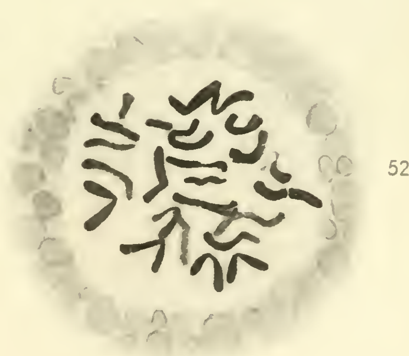
47


48

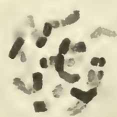


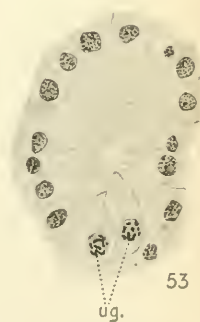
49


51


52


50


54



53



Martinotti.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

Inhalt des 3. Heftes.

In diesem Hefte befindet sich der Verlagsbericht 1914 der Verlagsbuchhandlung Wilhelm Engelmann in Leipzig, sowie eine Ankündigung der Internationalen Zeitschrift für wissenschaftliche Synthese »Scientia«.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



DREIZEHNTER BAND

VIERTES HEFT

MIT 16 TEXTFIGUREN UND 10 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 13. APRIL 1915



LEIPZIG

VERLAG VON WILHELM ENGELMANN

1915

Preis: M. 20.—.

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Il comportamento dei condriosomi durante i più precoci periodi dello sviluppo dei Mammiferi.

Di

Giuseppe Levi (Sassari).

Colle figure A—G nel testo e tavole XXXI—XXXIV.

Indice.

I. Introduzione e riassunto storico.

L'esistenza di condriosomi nelle cellule provenienti da segmentazione dell' uovo fu dimostrata per la prima volta da Benda (1903); quest' Autore ha descritto e raffigurato (1906) delle granulazioni mitocondriali nei blastomeri di Tritone in segmentazione.

Di gran lunga più estese furono le ricerche iniziate da Meves parecchi anni dopo (1911—1914) sulla fecondazione e sulla segmentazione delle uova di Vermi, Echinodermi e Tunicati.

Nel 1911 Meves dimostrò, che nelle uova di *Ascaris megalocefala* subito dopo avvenuta la fecondazione, i mitocondri maschili abbandonano lo spermatozoo, emigrano nell' ooplasma e si disgregano in particelle minutissime; da questo momento non è più possibile di riconoscere i mitocondri maschili dai femminili e poco dopo accadrebbe una fusione fra gli uni e gli altri.

I fratelli R. ed L. Zoja avevano fin dal 1891 osservato in questa stessa specie il frammischiarsi di granulazioni (plastiduli) di provenienza paterna e materna, le quali corrispondono certamente a quelle viste da Meves.

Altre ricerche sulle uova di *Ascaris* furono pubblicate successivamente al lavoro di Meves (1914), da Retzius (1911), da Vejdovsky (1911), da Held (1912), da Romeis (1912); esse sono esposte e criticate diffusamente nel lavoro di Meves (1913) ed è inutile che io ne parli; Held (1912) avrebbe osservato che i mitocondri maschili passerebbero nell' ooplasma senza disgregarsi, almeno durante un certo periodo.

Più recentemente (1914) Meves riferisce sul comportamento dei condriosomi nelle uova di *Ascaris* a due blastomeri; le granulazioni si affollerebbero costantemente intorno alla centroteca.

Nel 1912 Meves descrisse la fecondazione e la prima segmentazione delle uova di *Parechinus miliaris*; in questa specie i mitocondri ovulari hanno la forma di granuli piccolissimi; nello spermatozoo quella formazione ad anello, che vien definita dagli Autori come pezzo intermedio, si tinge coi metodi elettivi per i condriosomi.

Durante la fecondazione il pezzo intermedio si mantiene invariato nell' ooplasma, e per di più esso persiste senza disgregarsi in uno solo dei due blastomeri, i quali nel *Parechinus* non sarebbero adunque equivalenti.

Nel 1913 Meves riferì i suoi studi sull'uovo di *Phallusia mamillata*; lo spermatozoo possiede una guaina mitocondriale avvolta in 2—3 giri intorno alla testa; l'uovo fecondato contiene mitocondri, in parte sparsi fra le sfere di deutoplasma, in parte accumulati al polo inferiore.

La guaina spirale dello spermatozoo, che è penetrato nell' uovo, si suddivide in anelli distinti, i quali ad un determinato momento scompaiono; subito dopo si ritrovano sparsi fra i filamenti dell' aster dei corti bastoncini, che Meves suppone derivino dagli anelli della testa dello spermatozoo. Anche durante la prima divisione di segmentazione i bastoncini rimangono limitati all'aster.

Anche Duesberg (1913) in un' altra specie di Ascidia (*Cyona intestinalis*) ha visto che durante la segmentazione i condriosomi sono prevalentemente accumulati al polo vegetativo; e presso i fusi di maturazione

in una massa di sostanza fondamentale si trova qualche condriosomo a forma di bastoncino.

Luna (1913) ha confermato l'esistenza di mitocondri nei blastomeri di Anfibi, già dimostrata da Benda. Le ricerche sui condriosomi in fasi più inoltrate della segmentazione dell' uovo sono scarse; importante mi sembra lo studio di Romeis (1912), il quale in *Ascaris* seguì i condriosomi dall' uovo in segmentazione sino all' embrione con differenziazioni istologiche, dimostrando che negli archigonociti i condriosomi aumentano molto meno che nelle cellule somatiche; nei primi l'aumento dei condriosomi incomincia soltanto quando si trasformano in cellule sessuali funzionalmente attive. Durante la mitosi i condriosomi si comporterebbero in questo materiale in modo diverso che in altre cellule. Nessun rapporto genetico esiste fra condriosomi e deutoplasma, il quale, com' è noto, persiste a lungo negli embrioni di *Ascaris*.

Schaxel (1912) studiando la fecondazione e la segmentazione di un Polichete (*Aricia foetida*) si convinse che i mitocondri sono sparsi ovunque e non si trasformano finchè non interviene la differenziazione.

Duesberg (1913) ha studiato la citologia di uova di *Cyona intestinalis* a 16, a 32, a 64 blastomeri; ciascuna cellula contiene uno strato periferico di granuli di deutoplasma ed uno strato perinucleare di plastosomi. Nelle gastrule le cellule dell' abbozzo del sistema nervoso sono più ricche in plastosomi, più povere in deutoplasma delle cellule ectodermiche; moltissimi plastosomi contengono le cellule muscolari.

Delle ricerche di van der Stricht (1909), di Duesberg (1910), di Rubaschkin (1910) sui condriosomi delle uova di Mammiferi dirò in altro capitolo; mi limito per il momento a rammentare, che fu da questi Autori dismostrata l'esistenza, anche nelle uova di Mammiferi in segmentazione, di granulazioni mitocondriali voluminose.

Convinto del grande interesse che presenta lo studio del destino dei condriosomi[1]) durante i primi periodi dello sviluppo e convinto anzi, che sopratutto per questa via noi arriveremo ad illustrare il significato dei condriosomi ancor oggi tanto oscuro, ho intrapreso delle ricerche citologiche su uova ed embrioni di Chirotteri, che raccolsi a questo scopo nella primavera degli anni 1912 e 1913.

---

[1]) Riguardo alla nomenclatura, mi attengo a quella proposta originariamente da Meves 908: mitocondri forme granulari, condrioconti forme filamentose, condriosomi definizione generica per tutte le varietà di condrioma. Nella denominazione recente di plastosomi è implicito il principio della loro partecipazione alla differenziazione cellulare, che io non posso accettare.

In questa mia memoria io riferirò su quel periodo dello sviluppo che intercede fra la fecondazione dell' uovo e l'apparire delle prime differenziazioni negli organi dell' embrione. Sul periodo di accrescimento e di maturazione, riferirò soltanto quelle notizie che credo utili ad una più esatta interpretazione degli stadi, che furono più particolarmente oggetto delle mie ricerche.

II. Materiale e metodi di ricerca.

Io ho utilizzato 25 uova tubariche e 9 uova uterine di *Vespertilio murinus*, 3 uova tubariche e 6 uova uterine di *Vespertilio Blasii*, 10 uova tubariche e 7 uova uterine di *Rhinolophus euriale*, 2 uova tubariche ed 1 uovo uterino di *Miniopterus Schreiberti*; in tutte queste 63 uova la fissazione e la colorazione erano riescite in modo perfetto; di altre uova meno ben fissate non fu tenuto alcun conto.

Furono inoltre oggetto di studio moltissime blastocisti e numerosi embrioni di tutte e quattro le specie suddette.

Per lo studio delle uova tubariche ed uterine furono sezionate in serie la tuba e l'utero; così pure le blastocisti furono studiate in sezioni seriali dell' utero; le sezioni furono a preferenza condotte parallelamente alla superficie dell' utero, ma altre volte l'utero fu sezionato perpendicolarmente al suo asse. I blastodermi e gli embrioni venivano naturalmente fissati dopo averli tolti dall' utero, col sussidio, quando ciò era necessario, del microscopio binoculare.

La maggior difficoltà che ho incontrato in queste mie ricerche fu di ottenere una buona fissazione delle uova contenute nella tuba e nell'utero.

Il liquido di Regaud è molto penetrante e permette di ottenere con una certa costanza la colorazione dei condriosomi; ma le uova fissate in questa miscela apparivano deformate e conservate in maniera imperfetta. Il liquido di Benda si dimostrò anche menò adatto del primo. Migliori risultati ho ottenuto colla miscela di Champy (bicromato, acido cromico e tetrossido di osmio); però neppure questo metodo dà risultati costanti. Dopo molti tentativi mi convinsi che le più belle imagini si hanno anche su questo materiale colla formula di Maximow, modificata coll' aggiunta di una maggior quantità di tetrossido di osmio e di formolo (vedi la mia pubblicazione sulle cellule somatiche dell' ovaio 1913).

Certo anche questo fissatore ha il difetto di essere poco penetrante, inconveniente particolarmente sensibile nella conservazione delle uova uterine; cercai di ripararvi demolendo con delle forbicine ben affilate la

tonaca muscolare dell' utero; però il procedimento è pericoloso, perchè si corre il rischio di guastare l'uovo. Il minor spessore della parete uterina in *Rhinolophus* ed in *Vespertilio Blasii* permette di raggiungere in queste specie con maggior costanza una buona fissazione.

Il procedimento consigliato da qualche Autore di fissare l'ultero cogli ovidutti in sito si dimostrò poco opportuno nel caso nostro; anche prescindendo dal grande spreco di tetrossido di osmio che esso richiede, non ottenni con questo mezzo buoni risultati. Ad ogni modo la fissazione preliminare è per lo meno superflua, perchè le semplici manipolazioni, che l'asportazione dell' utero e degli ovidutti richiedono, non compromettono affatto l'integrità delle uova e delle blastocisti.

La fissazione è più che mai capricciosa nella fase dello sviluppo dell' uovo in cui incomincia a formarsi il lecitocele; e durante questa fase le uova nelle quali rilevai le migliori imagini furono quelle di *Rhinolophus*.

Ad ogni modo in qualche caso delle uova e delle piccole blastocisti contenute nell' utero, anche in *Vespertilio murinus* riescirono ben fissate, senza demolirne la parete; le ragioni di questa grande incostanza della fissazione, ben nota a tutti coloro che lavorano sui condriosomi, mi sfuggono completamente. Data la natura del mio materiale di ricerca, accessibile soltanto in un brevissimo periodo dell' anno, mi trovavo nell' impossibilità di eseguire dei tentativi preliminari di tecnica; e perciò nel caso nostro gli inconvenienti lamentati divenivano particolarmente sensibili. Ecco perchè, nonostante il grandissimo numero di esemplari delle 4 specie di Chirotteri ricordate, che ebbi a mia disposizione nella stagione opportuna, soltanto un numero relativamente esiguo di uova potè essere utilizzato per il mio scopo. La conservazione delle blastocisti già fissate alla mucosa uterina incontrava minori difficoltà.

Gli ovidutti e gli uteri, dopo rapido lavaggio in acqua corrente, venivano tenuti per 24 ore in alcool con tintura di iodio, poi rapidamente disidratati ed inclusi; ho trovato grande vantaggio nella doppia inclusione in celloidina e paraffina.

Venivano eseguite sezioni in serie dello spessore di 4—5 μ, di rado più sottili.

Ho dato la preferenza alla colorazione coll' ematossilina ferrica, previa ossidazione delle sezioni col metodo Rubaschkin. Belle imagini ottenni più tardi, quando cioè le mie indagini erano digià inoltrate, colla modificazione al metodo di colorazione di Altmann proposta da Kull (1913). Questo metodo riuscì ottimamente tanto su materiale fissato in liquido di Champy che in quello conservato nella miscela di Maximow, ed anche per questa colorazione era assai vantaggiosa l'ossidazione delle sezioni.

Un ultimo particolare tecnico; quando si desideri di colorire le sezioni coll' ematossilina ferrica, è opportuno di far seguire all' ossidazione la riduzione coll' anidride solforosa (miscela di Pal), perchè in tal caso il grasso osmizzato acquista una tinta giallognola e si distingue con facilità dal materiale mitocondriale, il quale è intensamente colorito in nero.

Per le sezioni da sottoporsi al trattamento Altmann-Kull invece io preferivo di eliminare il permanganato coll' acido ossalico (soluzione 4%), il quale non modifica che ben poco la tinta nera del grasso osmizzato, ed in tal caso il grasso risalta nettamente sul materiale mitocondriale colorito dalla fucsina.

III. I condriosomi negli oociti in accrescimento ed in maturazione e nelle uova fecondate.

Notizie bibliografiche. Le granulazioni dell' oocite ovarico dei Mammiferi erano conosciute dai citologi molto prima che Benda ne dimostrasse, per il loro comportamento di fronte a colorazioni elettive, l'affinità coi condriosomi dello spermatozoo e delle cellule somatiche[1]).

---

[1]) A. M. Heidenhain (Plasma und Zelle, Jena 1911) i mitocondri dell' oocite dei Mammiferi erano noti da lunghi anni, ed egli li interpretava senz'altro come formazioni previtelline. Sul nesso fra costituzione filare dell' oocite vista da Flemming ed i mitocondri vedi a pag. 480—482.

Poichè le ricerche mie odierne mi riconducono a trattare, per quanto incidentalmente dei condriosomi dell' oocite, non posso lasciare senza risposta un appunto che mi mosse Russo nel suo lavoro del 1913. Russo rileva che nel mio lavoro del 1911 ho riconosciuto nell'oocite di coniglia i mitocondri dei quali avevo contestato l'esistenza nel 1907 (Recensione nel Monit. zool. Anno 18 e »Risposta al Prof. Russo, ibidem«).

Io non esiterei affatto a riconoscere di aver modificato le mie vedute, se ciò fosse realmente avvenuto.

Ma in realtà il Prof. Russo è in errore quando afferma che nel 1907 io avevo contestato l'esistenza di mitocondri nell' oocite. Io manifestavo allora dei dubbi sulla natura mitocondriale delle granulazioni dell' ooplasma, suscettibili di aumento dopo somministrazione di lecitina, rilevando le difficoltà di differenziare i mitocondri da altri costituenti del citoplasma. Questa difficoltà esiste tuttora, nonostante i perfezionamenti raggiunti nella tecnica per i condriosomi, e sebbene in condizioni favorevoli di fissazione e di colorazione si possa ottenere una colorazione elettiva di questi organuli.

La critica che muovevo allora al Russo riguardava la possibilità di una trasformazione dei mitocondri in sostanze metaplasmatiche; e di tale possibilità, dopo molti anni di ricerche indefesse sul condrioma, non sono neppur ora convinto, sebbene convenga che oggi la maggioranza dei citologi, ed in particolar modo quelli della scuola francese, aderiscono alle idee del Prof. Russo piuttosto che alle mie. Ma la questione è ben lungi dall' esser chiusa, secondo me; ed anzi mi riprometto di documentare le mie affermazioni fra breve, più ampiamente di quanto l'abbia fatto finora, col materiale che da anni vado raccogliendo.

van der Stricht (1904, 1905, 1909) e Russo (1907, 1908) con pazienti ricerche seguirono il comportamento dei mitocondri durante l'accrescimento dell' oocite di Mammiferi.

van der Stricht (1909) dimostrò la continuità fra i mitocondri dell' oocite e quelli dell' uovo fecondato di Mammiferi e li seguì durante le prime segmentazioni.

Secondo la terminologia di O. van der Stricht, che concorda in molti punti con quella di van Beneden, ed è adottata anche da suoi allievi Lams e R. van der Stricht, vien definito come vitello plastico o formativo oppure come ooplasma formativo, il citoplasma omogeneo dell' uovo, il quale durante l'accrescimento dell' uovo ovarico si costituirebbe per trasformazione di mitocondri e di condriomiti; il materiale mitocondriale non trasformato può ritrovarsi, ed anzi persiste quasi sempre nel vitello plastico durante la maturazione e la fecondazione.

Il vitello nutritivo o deutoplasmatico sarebbe invece quella parte vacuolizzata del citoplasma dell' uovo, la quale contiene sfere adipose, ed anche mitocondri e condriomiti sparsi uniformemente fra le vescicole e le sfere di grasso. I vacuoli durante l'accrescimento dell' oocita si formerebbero per metamorfosi dei prodotti di disgregazione dei mitocondri.

Evitando di riferire le accurate ricerche di van der Stricht sulle modificazioni dell'oocite durante il suo accrescimento, che non rientrano nel mio piano di ricerche, incominciamo dall' analizzare quello che avviene, secondo l'autore belga, alla fase del 1° fuso di naturazione: le sfere adipose risiedono allora nel centro dell' uovo e sono circondate da uno strato corticale di vitello formativo; quando appare il 2° fuso, le sfere adipose divengono più piccole in prossimità del fuso, più cospicue al polo opposto; si avrebbe adunque un' inversione della polarità. Nell' uovo fecondato le granulazioni mitocondriali sono sparse per tutto il vitello formativo, sono più rare al polo vegetativo, ove il vitello nutritivo è più abbondante. Lo strato corticale di vitello formativo è sottile in corrispondenza di quest' ultima regione, nella quale risiedono i globuli polari, e s'ispessisce gradatamente verso il polo animale, raggiungendo il suo massimo spessore nel punto in cui i due pronuclei s'incontrano.

Ma ben tosto il deutoplasma si sposta dal centro dell'uovo verso il polo vegetativo, ed in questa fase la zona plastica si distingue assai nettamente dalla deutoplasmatica; la prima, che costituisce solo un terzo della massa dell'uovo, fa prominenza al disotto dei due pronuclei verso il centro.

In quanto alla distribuzione dei mitocondri durante la fecondazione, il vitello plastico ne è cosparso e sono assai abbondanti nello strato corticale. Ma in altri preparati il vitello plastico appare chiaro ed omogeneo con rare granulazioni; l'A. suppone che in questa fase la costituzione chimica dei mitocondri sia modificata nel senso che siano meno resistenti ai reattivi. Anche nel vitello nutritivo i mitocondri ed i condriomiti sono numerosissimi; vi si trovano inoltre delle sfere adipose e dei vacuoli chiari, il cui numero diminuisce progressivamente.

Col nome di deutoplasmolisi O. van der Stricht definisce il distacco, in corrispondenza del polo vegetativo, di numerose gemme, le quali hanno la struttura del deutoplasma; sarebbero costituite da vacuoli chiari, contenenti piccoli granuli vitellini. Il distacco di tali gemme dipenderebbe da movimenti ameboidi del vitello; esse divengono libere nello spazio perivitellino presso i globuli polari, e talora si insinuano anche negli interstizi fra i blastomeri.

Il processo di deutoplasmolisi è manifesto sopratutto dopo l'espulsione del 2° glo-

bulo polare e durante la fecondazione; può però prodursi anche durante le prime divisioni dell' uovo. Le masse di deutoplasma, le quali complessivamente possono anche avere un volume notevole, vanno incontro a liquefazione. La deutoplasmalisi non è costante e la massa di vitello eliminata varia assai da un uovo all' altro; quando è precoce, non ne resta traccia durante la segmentazione, perchè le masse probabilmente vengono liquefatte.

Nella stessa monografia O. van der Stricht riferisce che nell'uovo di cagna il deutoplasma adiposo è abbondantissimo e che fra le sferule di questa sostanza si trovano molti mitocondri. L'A. conclude che il vitello delle uova dei vari Mammiferi differisce per l'abbondanza, la natura e la disposizione del deutoplasma vacuolare ed adiposo, e delle formazioni mitocondriali.

Lams e Doorme (1908) riferiscono che durante la maturazione dell' uovo di topo e di cavia i mitocondri sono sparsi in tutto l'ooplasma, ma sono più abbondanti intorno alla vescicola germinativa e sotto la membrana vitellina; in queste due zone non esistono sfere adipose, le quali sono invece, almeno nella cavia, numerose in tutta la parte profonda del vitello; all'atto dell' espulsione del 1° globulo polare l'uovo presenta una polarità assai evidente.

Alla fase del 2° fuso la polarità persiste, ma le sfere adipose tendono ad invadere il polo animale. Alla fase dei due pronuclei la polarità è particolarmente manifesta nel topo.

Anikiew(1908) confermò la polarità dell'uovo di topo alla fase del 2° fuso ed al momento della fecondazione, tenendo particolarmente conto della repartizione delle particelle di deutoplasma piccole e grandi; le prime corrispondono evidentemente ai mitocondri.

Duesberg (1910) ha trovato, che nell' uovo di coniglia maturo le granulazioni mitocondriali sono sopratutto abbondanti nello strato corticale, fuorchè a livello del fuso di maturazione, ove mancano, mentre nel rimanente citoplasma esse sono riunite in piccoli ammassi collegati da catene di granuli.

Dalla memoria di R. van der Strichr (1911) si rileva che le uova di gatta sono caratterizzate dall' abbondanza e dal grande volume delle sfere adipose; però la quantità di queste sfere varia a seconda delle uova. Durante la maturazione esse sono raccolte nel centro dell'uovo; i mitocondri all' incontro sono sparsi in tutto l'uovo, ma sono più fitti nella sottile zona corticale, nella quale manca il grasso. Fra la massa deutoplasmatica centrale e lo strato corticale vi è una zona a sfere adipose piccole e rare, l'estensione della quale è inversamente proporzionale alla quantità del deutoplasma.

Nell' uovo a 2 pronuclei la zona corticale plastica può essere cancellata dall'invasione di grosse sfere adipose; a questa fase la polarità è manifesta e l'A. potè convincersene anche coll'osservazione a fresco; l'estensione della parte plastica era molto minore di quella della parte deutoplasmatica. I globuli polari occupano talora il polo deutoplasmatico, altre volte il polo plastico; il ravvicinamento dei due pronuclei avviene al polo plastico.

Lams (1913) trova in uova di cavia al 1° fuso i mitocondri diffusi in tutto il citoplasma; le sfere adipose sono accumulate in prevalenza al polo vegetativo, mancano del tutto in una sottile zona plastica periferica.

Dopo l'espulsione del 1° globulo polare la polarità dell' uovo diviene anche più netta; ma ben presto si cancella, ed anzi dopo avvenuta la fecondazione il deutoplasma emigra verso il polo animale.

Osservazioni personali. Sull' accrescimento e sulla maturazione dell' uovo di Chirotteri riferirò soltanto delle notizie sommarie; esse sono destinate sopratutto ad integrare le mie ricerche sul comportamento dei mitocondri nell' uovo fecondato e nell' embrione.

Gli oociti dell' ovario di Chirotteri contenuti in follicoli ad 1—3 piani di cellule follicolari sono in tutte le 4 specie esaminate privi di sfere di deutoplasma; il citoplasma contiene un numero grandissimo di granuli sferici, di grandezza quasi eguale fra loro, fortemente coloriti, che corrispondono alle formazioni che comunemente vengono definite come mitocondri dell' uovo; sovente sono raccolti in gruppetti od allineati a catene (condriomiti); nelle uova piccole hanno una distribuzione uniforme, coll' aumentare del volume dell' uovo i mitocondri divengono più radi nella parte centrale dell' oocite, la quale circonda il nucleo (tav. XXXI fig. 1). Il citoplasma in cui i mitocondri sono contenuti ha in questa fase una costituzione omogenea. In qualche preparato trovavo spesso accanto ai mitocondri dei filamenti brevissimi e sottili. In altri oociti la minore uniformità nella distribuzione dei mitocondri coincide colla comparsa in molti punti dell' ooplasma di piccoli vacuoli. Nei follicoli a molti piani di cellule, ma senza antro, incominciano a formarsi nella parte centrale dell' oocite molti piccoli vacuoli ed i mitocondri diminuiscono nel citoplasma vacuolizzato e son respinti verso la periferia: nell' oocite riprodotto a fig. 2, tav. XXXI vediamo il corpo vitellino intimamente aderente alla vescicola germinativa, che è spostata verso la periferia; la parte centrale dell' oocite contiene pochissimi mitocondri e molti vacuoli; il materiale mitocondriale è quasi tutto raccolto alla periferia.

Più tardi, in oociti contenuti in follicoli con antro, i mitocondri sono raccolti in uno strato periferico molto compatto; la parte centrale dell' ooplasma contiene vacuoli sempre più numerosi, sfere adipose e pochi mitocondri interposti (vitello nutritivo secondo O. van der Stricht).

Negli oociti appartenenti a follicoli vescicolosi lo strato mitocondriale marginale diviene sempre più sottile e meglio delimitato dal citoplasma centrale, il quale è letteralmente crivellato da piccolissimi vacuoli, e contiene esclusivamente le grosse sfere adipose (tav. XXXI fig. 3); la vescicola germinativa ha una sede eccentrica ed interrompe perciò la continuità dello strato mitocondriale periferico, costituito da mitocondri straordinariamente addensati (tav. XXXI fig. 3); in questi oociti più grandi non ho visto dei filamenti, forse perchè il grande addensamento del condrioma ne ostacolava l'analisi. Lascio del tutto impregiudicata la questione tanto controversa della partecipazione dei mitocondri all' elaborazione del deutoplasma, insistentemente affermata da O. van der Stricht

(1909) e da Russo (1907—1912), perchè tale problema è estraneo al mio piano di ricerche, che è sopratutto lo studio dei condriosomi durante i primi periodi dello sviluppo; io invero non sono convinto, per i miei studi su altro materiale, che una tale trasformazione avvenga realmente (vedi nota a pag. 476—477).

Ed anche dall' analisi degli oociti di Mammiferi ho ricevuto l'impressione, che i mitocondri vengano respinti verso la periferia dal deutoplasma, che si va formando a poco a poco; quest' è rappresentato dal grasso e da altre sostanze verisimilmente disciolte dai reagenti e che conferiscono al citoplasma l'aspetto finamente vacuolare suaccennato. Quanto più abbondante è il deutoplasma, tanto più addensati sono i mitocondri alla periferia e tanto più ristretto e meglio delimitato è lo strato che essi formano; la densità dei mitocondri è in quella regione tale, che, se la sezione non è sottilissima, l'individualità dei singoli granuli non appare, mentre in realtà è nettissima.

Imagini molto diverse ho incontrato in oociti di cavia e di *Mus musculus*, ma sopratutto nella prima specie.

Negli oociti appartenenti a follicoli a 2—3 piani di cellule troviamo, come nei Chirotteri, mitocondri granulari uniformemente distribuiti, ma assai più scarsi ed a contorno non sempre nettamente definibile. Più tardi la comparsa di sfere adipose nell' oocite coincide colla trasformazione dei mitocondri in filamenti brevi e rigidi; è opportuno aggiungere che nella cavia le sfere adipose sono piccole ed i vacuoli scarsissimi e che tale materiale deutoplasmatico costituisce una massa meno nettamente delimitata che nei Chirotteri.

Mi sembrò che la trasformazione dei mitocondri granulari in filamenti avvenisse in seguito ad allungamento dei primi; non di rado vediamo un filamento sormontato da un granulo. Aggiungo che questa trasformazione in filamenti non interessa tutti i mitocondri, ma soltanto alcuni; ed infatti, anche in oociti molto evoluti, troviamo accanto a filamenti dei granuli, come appare dalla fig. 4, tav. XXXI la quale riproduce un grosso oocite di cavia con fuso di maturazione contenuto in un follicolo atresico; da questa figura risulta inoltre che in cavia i mitocondri sono complessivamente assai scarsi, cosicchè estese porzioni di citoplasma (il quale ha una struttura fimamente granulare) sono prive di mitocondri e di condrioconti. Un' orientazione di questi organuli intorno ai poli del fuso non era affatto apprezzabile.

Io mi son posto più volte durante le mie ricerche il quesito, quale rapporto sussista fra queste imagini da me osservate negli oociti di alcune specie di Mammiferi e la massa filare descritta da Flemming sin dal 1882

nell' oocite di coniglia, più tardi (nel 1899) più minutamente studiata dallo stesso Autore, e recentemente anche da RETZIUS.

FLEMMING afferma che formazioni filamentose rappresentate da file di granuli attraversano dappertutto, descrivendo giri tortuosi, il citoplasma dell' oocite; in preparati fissati i filamenti sembrano anastomizzarsi. I granuli di deutoplasma sono addossati ai filamenti; i granuli più piccoli si presentano come ispessimenti dei filamenti, i più grossi ne sembrano separati.

La massa interfilare appariva omogenea e pallida.

VON EBNER (nel trattato di KÖLLIKER) esprime il convincimento che la struttura filare vista da FLEMMING sia l'effetto di un'attrazione reciproca dei granuli, per effetto della quale i granuli si dispongono in filamenti »... dann wären nicht die Fäden, sondern feinste Körnchen das Primäre und das Hinausrücken größerer Körner aus den Reihen würde sich als Folge ihrer Volumszunahme erklären«.

RETZIUS (1910, 1911) in varie pubblicazioni descrisse e raffigurò il citoplasma dell' oocite dei Mammiferi come costituito da un mitoma di filamenti tortuosi con ispessimenti granulari; è dubbio se questi filamenti si anastomizzino veramente fra loro.

Quando questo lavoro era quasi pronto per la stampa fu pubblicata una memoria da CATTANEO (1914), nella quale sono riferite estese ricerche sull' apparecchio reticolare interno e sul condrioma degli oogoni e degli oociti di Mammiferi. CATTANEO descrive mitocondri granulari che tendono a raggrupparsi in ammassi. Ma in oociti di coniglia fissati in liquido di MAXIMOW riscontrò dei corti bastoncini più o meno incurvati, non molto numerosi, e sparsi senza legge determinata nel protoplasma. Filamenti più lunghi e più numerosi riscontrò in ovaie della stessa specie fissate in liquido BOUIN.

Alcune delle figure di CATTANEO ed in particolar modo la sua fig. 28 si avvicinano molto alle imagini da me ottenute nella cavia (confronta colla mia fig. 4, tav. XXXI). Debbo aggiungere che nei miei preparati di ovaio di coniglia e di gatta gli oociti avevano condriosomi granulari.

Qualsiasi interpretazione di risultati tanto contradditori sarebbe azzardata; per il momento io credo impossibile di precisare, se queste forme di condriosomi a bastoncino od a filamento che si possono ritrovare in determinate fasi dell' evoluzione dell' oocite di alcuni animali preesistano nel vivente oppure siano artefatti dipendenti dalla tecnica. Negli ovociti ovarici viventi non mi fu mai dato di dimostrare l'esistenza di filamenti; ho eseguito non poche osservazioni coi più forti ingrandimenti e nelle più favorevoli condizioni di illuminazione sugli ovociti di follicoli vescicolosi

di vacca e di scrofa; in essi era distintissima la differenza fra la parte marginale dell' oocite cosparsa di infinite piccole granulazioni assai refrangenti, certamente mitocondriali, e di qualche sfera chiara, e la gran massa rimamente dell' oocite a struttura omogenea, contenente alcune grosse sfere molto refrangenti, le quali avevano il carattere del deutoplasma.

Quest' imagine concorda adunque con quelle ottenute nei preparati fissati; una zona periferica mitocondriale che avvolge la massa centrale dell' oocite ripiena di deutoplasma. Mai coll' osservazione sul vivente mi fu dato di distinguere dei filamenti.

Tale risultato diminuisce certamente il valore dell' osservazione di Cattaneo e mia sull' esistenza di condrioconti nell' oocite ovarico di cavia e di coniglia, ma esso non basta a dimostrare che le imagini da noi osservate in quelle specie siano artificiali. Non dobbiamo dimenticare l'osservazione di Flemming più sopra ricordata sull' esistenza di una massa filare nell' oocite di coniglia non sottoposto all' azione dei reagenti. Può darsi anzi tutto che i caratteri dei condriosomi non siano sempre gli stessi in tutte le specie; e non è neppure da escludersi che i condrioconti in alcuni oociti abbiano caratteri ottici tali, che la possibilità di dimostrarli nel vivente incontri delle difficoltà insuperabili.

Chiudiamo questa lunga parentesi e riprendiamo ad analizzare i fenomeni che accompagnano la maturazione dell' oocite di Chirotteri; i miei preparati confermano pienamente gli studi di van der Stricht: la massa dei mitocondri si mantiene, come nell' uovo ovarico dei più grossi follicoli, prevalentemente limitata alla zona marginale; nell' oocite tubarico di *Vespertilio murinus* alla fase del 2° fuso di maturazione, riprodotto a fig. 5, tav. XXXI[1]), il citoplasma di una vasta regione dell' oocite, la quale s'estende dal fuso di maturazione sin poco al disotto del polo animale, ha una vera struttura alveolare; e tale struttura è determinata dalla presenza di moltissimi piccoli vacuoli di grandezza uniforme; vi troviamo inoltre alcune grosse sfere adipose tinte in bruno dall' acido osmico e pochi mitocondri sparsi o riuniti a piccoli gruppi.

I mitocondri sono quasi esclusivamente raccolti in uno strato periferico compatto, che è un po' più ampio al polo animale dell' uovo, si assottiglia alquanto al polo vegetativo, ove risiede il fuso di maturazione (vedi tav. XXXI fig. 5, la quale riproduce una sezione tangenziale del polo vegetativo dell' oocite). Io ho veduto che questa netta distinzione fra le due regioni dell' uovo scompare, poco dopo avvenuta la fecondazione.

---

[1]) Il 1° globulo polare non è compreso nella sezione; probabilmente esso si trovava nella sezione vicina, la quale disgraziatamente era stata guastata dal coltello.

In un uovo tubarico a due pronuclei (tav. XXXI fig. 6) di *Vespertilio murinus*, nel quale i due pronuclei sono assai ravvicinati (li separa una distanza di 8 μ) trovo un cumulo di sfere adipose di vario volume (raggiungono un massimo di 3,5 μ di diametro); esse sono addensate prevalentemente nel centro dell' uovo, ma si estendono sin presso al polo vegetativo, in prossimità del quale si trovano i due globuli polari. I due pronuclei si sono avvicinati al polo animale; qualche sfera adiposa si spinge nell' interstizio fra questi; in mezzo alle sfere qualche piccolo vacuolo.

I due pronuclei hanno egual volume, sono vescicolosi e ciascuno di essi contiene due grossi nucleoli; non vi è alcun carattere che permetta di distinguere il pronucleo maschile dal femminile.

I mitocondri (tav. XXXI fig. 6) hanno la forma di granuli sferici, sempre piccolissimi (0,3 μ), di grandezza uniforme, a contorno netto, intensamente coloriti dall' ematossilina. Il loro numero è grandissimo e sembrano quasi uniformemente distribuiti in tutto il citoplasma; nella parte centrale dell' uovo, ove risiedono le sfere adipose, sembrano un po' più scarsi. Però una delimitazione netta, tale da giustificare la distinzione di VAN DER STRICHT fra vitello plastico e nutritivo, non appariva in questa fase.

In corrispondenza del polo vegetativo si distingueva in quest' uovo un filamento cospicuo, tozzo, ripiegato su sè stesso, che l'esame delle sezioni seriali dimostrava essere la sezione ottica di una membrana; aveva una struttura omogenea simile a quella della membrana pellucida, ma essa non era certamente in continuità con quella; sul suo significato non saprei pronunziarmi.

In un altro uovo a 2 pronuclei di *Vespertilio murinus*, noi ritroviamo la stessa distribuzione uniforme dei mitocondri; soltanto le sfere adipose erano assai scarse. Ho trovato invece in grandissimo numero nello spazio perivitellino delle masse protoplasmatiche, che verisimilmente rappresentano il risultato di quella gemmazione dell' ooplasma, che VAN DER STRICHT ha denominato deutoplasmolisi. Queste masse raggiungono talora anche un diametro di 5 μ; quelle che evidentemente sono di formazione più recente hanno un contorno netto ed una costituzione identica al citoplasma dell' uovo e contengono perciò numerosi mitocondri.

Ma evidentemente queste sfere regrediscono ben presto; lo induco dalla scomparsa dei mitocondri e dal divenire indistinto il contorno in molte di esse.

Nè VAN DER STRICHT, nè LAMS fanno cenno alla presenza di mitocondri nell' interno delle sferule, che essi ritengono di natura deutoplasmatica. Data la presenza di mitocondri nell' interno delle masse protoplasmatiche, la definizione di deutoplasmolisi per questo processo mi

sembra poco appropriata; io credo piuttosto che si tratti di un' eliminazione di frammenti di citoplasma, i quali hanno una costituzione identica all' ooplasma od al citoplasma dei blastomeri.

IV. I condriosomi nelle uova in segmentazione.

Notizie bibliografiche. Fra le descrizioni degli Autori meno recenti sulla struttura delle uova in segmentazione, quella di VAN BENEDEN si accorda senza dubbio meglio di ogni altra colle osservazioni odierne, come giustamente rileva DUESBERG, (1910). Secondo VAN BENEDEN, alla fine della segmentazione tanto le cellule ectodermiche che quelle della massa interna dell' uovo di coniglio contengono delle granulazioni, le quali nelle prime sono accumulate nella parte esterna della cellula, nelle seconde circondano il nucleo.

Che il grande embriologo belga avesse visto e raffigurato le granulazioni mitocondriali dell' uovo, non vi può essere dubbio; anche nel lavoro postumo di VAN BENEDEN pubblicato per cura di BRACHET (1911) si distinguono nelle figure che ritraggono uova viventi, delle granulazioni minutissime sparse in mezzo ai globuli di deutoplasma; tali granulazioni mancano invece nelle figure tolte da preparati fissati e sezionati in serie; questo perchè furono adoperati nella fissazione dei procedimenti inadeguati alla conservazione dei condriosomi.

Tutti gli altri Autori, i quali prima di O. VAN DER STRICHT (1909) si erano occupati della segmentazione di uova di Mammiferi (TAFANI [1889], SOBOTTA [1895], ANIKJEW [1908] ed altri), eseguirono le loro ricerche sovra un materiale nel quale, per effetto della fissazione inadeguata, i condriosomi od erano del tutto disciolti od erano imperfettamente conservati.

VAN DER STRICHT (1909) ritrova nei due primi blastomeri un polo animale formato da vitello plastico, il quale occupa quasi i tre quarti della cellula e tende ad estendersi verso il polo vegetativo, circondando la massa vacuolare di deutoplasma; quest' ultima si riduce sempre più, e vien ricacciata verso la parte centrale di ciascun blastomero; le sfere adipose che essa conteneva son molto diminuite. I nuclei situati dapprima presso il piano di segmentazione si avvicinano poi al polo animale. I due blastomeri hanno la stessa struttura e differiscono l'uno dall' altro soltanto per la presenza nell' uno di essi della coda dello spermatozoo; questo singolare fatto non sarebbe però costante; su 41 uova studiate l'A. l'osservò nettamente soltanto 5 o 6 volte. Sembrò all'A. che la persistenza di quest' organo imprima ad uno dei due blastomeri un' impronta particolare (presenza di speciali filamenti perinucleari).

Anche allo stadio a 3 blastomeri si nota una manifesta polarità tanto nel grande blastomero che nei due piccoli; gli stadi successivi non furono considerati dall' A.

DUESBERG (1910) in una breve nota ci riferisce le sue osservazioni sulla continuità dei mitocondri dalle prime segmentazioni dell' uovo di coniglia all' embrione. Sin nell' uovo a due blastomeri i mitocondri tendono a lasciar libero un sottile strato corticale e si accumulano nel centro della cellula e questa tendenza si accentua nelle fasi successive; allora i mitocondri si accumulano in una zona media del blastomero, rispettando un' esteso alone periferico ed una zona centrale perinucleare. Contemporaneamente il calibro delle granulazioni aumenta e verso la fine del 2° giorno esse si trasformano in vescicole con parete fortemente colorita e scolorite nel centro.

Alla fine della segmentazione vera e propria, la disposizione dei mitocondri coincide con quella descritta da VAN BENEDEN.

Nello stesso anno Rubaschkin (1910) ha dimostrata l'esistenza di granulazioni mitocondriali nell' uovo di cavia segmentato in 4 blastomeri; queste sono accumulate prevalentemente intorno al nucleo dei blastomeri e si estendono in una sola direzione verso la periferia, cosicchè i mitocondri sono più fitti in una metà della cellula che nell' altra; i quattro blastomeri non differiscono l'uno dall' altro nè per la forma, nè per la quantità dei granuli.

In una nota di Russo (1911) sono descritte alcune particolarità citologiche osservate in uova tubariche viventi di coniglio a 2 ed 4 blastomeri; alcune di queste uova (uova cataboliche secondo Russo) contenevano cristalli di acidi grassi simili a quelli da lui descritti nelle uova ovariche; accanto a queste uova se ne trovano negli ovidutti altre, le quali sono affatto prive di cristalli e contengono soltanto globuli di lecitina (uova anaboliche). Sull' importanza che questi due tipi di uova possono avere per la determinazione del sesso non è il caso di riferire qui. I cristalli di acidi grassi si alterano facilmente per effetto della fissazione o dei trattamenti successivi; però talora si possono osservare dopo fissazione in liquido di Benda.

Lams (1913) in uova di cavia a 2 blastomeri trovò che le sfere adipose occupano tutto il citoplasma rispettando soltanto una zona perinucleare ed un sottile alone periferico sottostante alla membrana vitellina.

Lams conferma in cavia la persistenza della coda dello spermatozoo in uno dei due blastomeri, già vista da van der Stricht in *Vespertilio.*

Osservazioni personali. Fra le 60 uova in segmentazione che ho studiate verranno scelti alcuni esempi che mi sembrano più dimostrativi.

Uova a 2 blastomeri.

Uovo tubarico B di *Vespertilio murinus*; il piano di sezione è un po' obliquo rispetto al piano di segmentazione[1]).

Contiene scarse e piccole sfere adipose; i mitocondri hanno in tutti e due i blastomeri distribuzione uniforme; sono rotondeggianti, minutissimi, fitti e di grandezza eguale fra loro; quà e là si notano dei mitocondri raccolti in piccoli cumuli irregolari od allineati in catenelle (condriomiti).

I mitocondri sono sempre molto piccoli (0,3 μ di diam.); mi sembrò che il loro volume fosse alquanto maggiore che nelle uova mature e fecondate, ma si tratta ad ogni modo di differenze lievi e non esenti da critica, visto che non è escluso che su lievi differenze di grandezza dei mitocondri abbia una certa influenza la fissazione. Nello spazio perivitellino si trovano accanto ai due pronuclei delle masse protoplasmatiche di vario volume, contenenti pur esse dei mitocondri.

I due blastomeri differiscono fra loro soltanto per la presenza in uno di essi del pezzo intermedio dello spermatozoo; quest' ultimo risiede verso la parte media del blastomero non lungi dal nucleo; misura 11 μ di lunghezza ed è ben conservato; la sua parte assile è chiara, lungo i margini sono alli-

---

[1]) Quando nella descrizione dei reperti non vien fatto cenno della tecnica seguita va sottinteso che il materiale fu fissato in liquido di Maximow modificato e colorito coll' ematossilina ferrica.

neati in due file, ad intervalli molto regolari, dei granuli, i quali hanno i caratteri dei mitocondri; hanno un volume un po' minore dei mitocondri dell' uovo, ma non ne differiscono per i loro caratteri tintoriali.

Si tratta di un fatto identico a quello osservato da VAN DER STRICHT nella stessa specie, da LAMS nella cavia; degna di nota è la circostanza, che nel mio caso, ed in altri di cui dirò, soltanto il pezzo intermedio (segmento anteriore della coda secondo VAN DER STRICHT) era stato trasmesso ad uno dei due blastomeri, mentre VAN DER STRICHT parla di segmento anteriore e medio della coda. La disposizione dei mitocondri era un po' diversa da quella che si nota nello spermatozoo integro (vedi più oltre).

Uovo tubarico N di *Vespertilio murinus*; è notevole il grande volume dei due blastomeri; uno misura 62×35 μ, l'altro 66×33 μ.

I due blastomeri hanno forma emisferica e sono appiattiti in corrispondenza del piano di segmentazione. Numerose e grosse sfere adipose sono accumulate in prevalenza presso i nuclei; non esistono vacuoli; nello spazio perivitellino vediamo i due globuli polari e delle masse protoplasmatiche sferiche, alcune delle quali molto grandi; gli uni e le altre sono accolti in profonde nicchie scavate alla superficie dei blastomeri; è degno di nota che, tanto i globuli polari che le grosse masse protoplasmatiche si trovano in quella parte dello spazio perivitellino che corrisponde al piano di divisione, nella parte più profonda del solco di segmentazione.

I mitocondri sono ben distinti, non solo nei due blastomeri, ma anche nei globuli polari e nelle masse protoplasmatiche; hanno i caratteri consueti e soltanto in uno dei due globuli polari i granuli sono più grossolani, il che forse indica l'iniziarsi di un processo regressivo nel globulo polare.

Uovo tubarico T di *Vespertilio murinus*. I blastomeri hanno anche qui forma emisferica e l'appiattimento corrisponde al piano di segmentazione. Nello spazio perivitellino si trovano i due globuli polari in palese degenerazione e 3 masse protoplasmatiche sferiche, una delle quali è molto grande; vi si trova pure un liquido coagulato dai reattivi, il quale costituisce una massa tenue e trasparente. I nuclei sono spostati verso il polo animale (a 7 μ di distanza dal polo). Le sfere adipose sono sparse un po' dappertutto, ma in maggior quantità sono accumulate nel centro dell' uovo. I mitocondri hanno i consueti caratteri e distribuzione uniforme.

Uovo tubarico V di *Vespertilio murinus* (tav. XXXI fig. 7 e 7a). L'appiattimento dei due blastomeri interessa soltanto $^1/_5$ della superficie dell' uovo; evidentemente quest' uovo si trova ad una fase dello sviluppo alquanto più inoltrata delle precedenti ed i due blastomeri tendono a riacquistare la forma sferica.

Al polo animale, nell' angolo rientrante fra i due blastomeri, si trovano i due globuli polari e piccole masse protoplasmatiche; gli uni e le altre contengono mitocondri; in uno dei globuli polari si riconosce un residuo di sostanza nucleare in forma di una massa sferica intensamente colorita (tav. XXXI fig. 7).

In uno dei due blastomeri di quest' uovo trovo in immediata prossimità del nucleo (tav. XXXI fig. 7 e 7a) il pezzo intermedio dello spermatozoo, il quale fu colpito trasversalmente dal taglio e si segue in tre sezioni successive.

Esso appare in forma di una piccola area circolare, che rappresenta evidentemente la sezione trasversa del filamento assile, circondata alla periferia da un anello di granulazioni seriate, intensamente colorite, più piccole dei mitocondri dell' uovo; non vi può essere dubbio che si tratti della sezione trasversa della guaina mitocondriale, la quale sarebbe adunque costituita da anelli, che alla lor volta risultano di mitocondri seriati.

Quando il piano di sezione cade paralellamente al maggior asse del pezzo intermedio, i mitocondri dei vari anelli si presentano in sezione ottica allineati, come abbiamo veduto, lungo i margini del filamento assile (vedi uovo B di *Vespertilio mur.* p. 485).

Dalle ricerche di Eimer (1874) di Ballowitz e di Retzius (1906) si rileva che gli spermatozoi dei Chirotteri hanno un pezzo intermedio provvisto di una guaina spirale. Dopo la penetrazione del pezzo intermedio nel citoplasma ovulare debbono essere intervenute delle modificazioni nella sua costituzione, perchè un vero e proprio filamento spirale nei miei preparati non era più riconoscibile.

Forse in seguito ad imbibizione della guaina del pezzo intermedio, diveniva appariscente la costituzione mitocondriale originaria nelle spire del filamento spirale.

I blastomeri contengono cospicue sfere adipose, ma la prevalenza di queste al polo vegetativo, sulla quale insiste van der Stricht, è pochissimo sensibile (tav. XXXI fig. 7). I mitocondri ovulari sono, come di consueto, distribuiti uniformemente ed hanno tutti eguale grandezza.

Uovo tubarico di *Rhinolophus* F (colorito col metodo Altmann-Kull). L'appiattimento corrispondente al piano di segmentazione interessa soltanto $^1/_5$ della superficie dell' uovo. Molte masse protoplasmatiche in quella parte dello spazio perivitellino che corrisponde al polo vegetativo.

I mitocondri son coloriti con grande elettività dalla fucsina; essi sembrano un po' più piccoli che nelle uova di *Vespertilio mur.*

Uova da 3 a 5 blastomeri.

Uovo tubarico di *Vespertilio murinus* G (tav. XXXI fig. 8). È diviso in un blastomero grande e due più piccoli. Il piano di sezione è un po' obliquo rispetto all' equatore dell' uovo, ed è per questo che nella fig. 8, tav. XXXI il grande blastomero appare sezionato tangenzialmente, cosicchè sembra di volume inferiore ai due piccoli blastomeri, i quali invece sono colpiti dal taglio in un piano mediano. Delle grosse masse protoplasmatiche si trovano in quella parte dello spazio perivitellino che corrisponde all' interstizio fra i due piccoli blastomeri ed il grande (tav. XXXI fig. 8); queste masse sono in realtà più cospicue di quanto risulti dalla figura, perchè nella sezione riprodotta è colpito dal taglio soltanto il cocuzzolo delle sfere suddette. Queste sfere hanno un contorno netto e contengono mitocondri identici a quelli dei blastomeri.

Il grande blastomero possiede 2 nuclei; anche a questo stadio si nota l'appiattimento dei blastomeri corrispondente al piano di segmentazione. Tutti e tre i blastomeri contengono varie sfere adipose e mitocondri coi caratteri consueti; questi sono però ormai sensibilmente più grandi che nell' uovo maturo (confr. tav. XXXI fig. 5 con fig. 8).

In uno dei 3 piccoli blastomeri presso il nucleo si distingue (tav. XXXI fig. 8) il pezzo intermedio dello spermatozoo ben conservato; la parte assile è chiara, lungo i margini sono allineate due file di mitocondri, coloriti intensamente dall' ematossilina come i mitocondri ovulari, ma di volume più piccolo di questi ultimi.

È la prima volta che la persistenza del pezzo intermedio dello spermatozoo vien dimostrata in un uovo a 3 blastomeri.

Uovo tubarico di *Vespertilio mur.* L; anche quest' uovo è segmentato in un blastomero grande e due piccoli; esso è sezionato in un piano quasi paralello all' equatore; anche in quest' uovo il grosso blastomero contiene due nuclei. L'appiattimento corrispondente ai piani di segmentazione interessa un segmento limitato della superficie, cosicchè i blastomeri hanno una forma quasi sferica. Le sfere adipose sono scarse; i mitocondri sono un po' ingrossati.

Uovo tubarico di *Rhinolophus* B. Tanto in quest' uovo che in un altro (A) della stessa specie a 3 blastomeri, questi contengono una quantità grandissima di sfere adipose; le più grosse sfere raggiungono un volume di 8 μ; esse risiedono nella parte di ciascun blastomero che è rivolta verso la periferia dell' uovo.

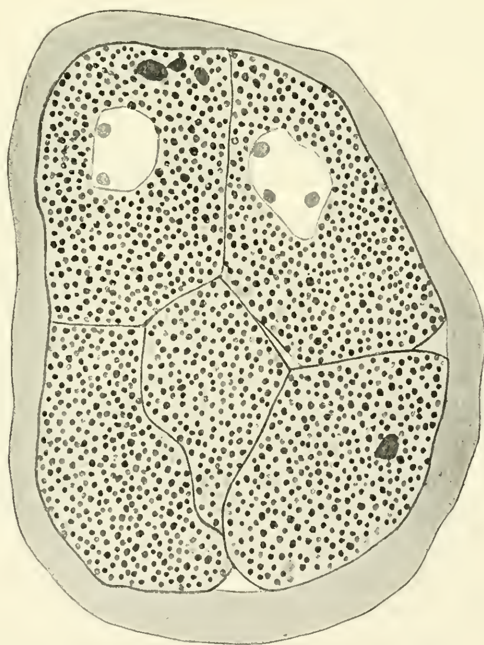
In generale ho osservato che nelle uova di *Rhinolophus* il deutoplasma è più abbondante, che in quelle di *Vespertilio murinus*. Però è opportuno rammentare che la quantità di deutoplasma varia entro limiti molto

ampi anche fra individui della stessa specie; ciò si rileva anche dalle figure di VAN DER STRICHT, e questi reperti si ricollegano forse a quelli di RUSSO sulle uova di coniglio, riferiti più sopra.

I mitocondri sono un poco più piccoli che nelle uova di *Vespertilio mur.* allo stesso stadio. In quest' uovo non esisteva il pezzo intermedio dello spermatozoo.

Molto dimostrativo mi sembra l'uovo di *Vespertilio Blasii* a 5 blastomeri riprodotto nella fig. A; in quest' uovo il piano di sezione è quasi perpendicolare all'asse dell' uovo. L'orientazione favorevole permette di stabilire, che 4 blastomeri di volume approssimativamente eguale sono collocati in un medesimo piano e che un 5° blastomero assai più grande è sovrapposto ai primi.

Figura A.



Uovo tubarico a 5 blastomeri di *Vespertilio Blasii* B. — Ingr. 1800 ×

Nella fig. A si distinguono tutti e 5 i blastomeri; ma del 5° appare soltanto il segmento inferiore incuneato fra gli altri quattro. I blastomeri sono in tutta la loro superficie in contatto colla pellucida e lo spazio peri-

vitellino è reale soltanto in corrispondenza dei piccoli interstizi a sezione triangolare alla superficie dei solchi.

Differenze strutturali fra i vari blastomeri non esistono; le sfere adipose sono scarse in tutti; i mitocondri, pur conservando i caratteri consueti (uniformità di calibro, grande colorabilità), sono un po' più grossi che negli stadi antecedenti.

L'uniformità nella struttura dei vari blastomeri rilevata nei miei preparati contrasta coll' affermazione di van Beneden, che i piccoli blastomeri assumono di fronte all' acido osmico una tinta bruna più scura dei grandi; certo, anche supponendo che tale differenza sussista, a ciò è estranea tanto la quantità del deutoplasma che la distribuzione del materiale mitocondriale.

Uova da 6 a 20 blastomeri.

Uovo tubarico di *Vespertilio mur.* O segmentato in 2 grossi blastomeri e 4 più piccoli; l'orientazione dell' uovo è tale, che riesce impossibile di definire quale sia l'aggruppamento dei grandi e rispettivamente dei piccoli blastomeri.

Nell' ampio spazio perivitellino si trovano molte sfere protoplasmatiche, alcune delle quali sono integre con mitocondri conservati, altre in disfacimento. Le sfere adipose sono scarse; i mitocondri hanno i caratteri descritti nell' uovo precedente.

Un uovo ad 8 blastomeri di *Vespertilio murinus* (uovo uterino H) fu da me trovato nell' interno della cavità uterina; esso è caratterizzato da differenze di grandezza rilevanti fra i vari blastomeri (da $26\,\mu$ a $25 \times 17\,\mu$ di diametro), da mancanza di masse protoplasmatiche e da scarse sfere adipose.

Uovo tubarico di *Vespertilio mur.* K a 10 blastomeri. Nello spazio perivitellino si nota qualche massa protoplasmatica; alcune di queste son ben conservate, ma in altre si nota un ingrossamento dei mitocondri, che io ritengo sia l'indice di una regressione delle masse medesime.

Spiccate le differenze di grandezza fra i blastomeri; ad un polo dell' uovo si trovano due grossi blastomeri di $27\,\mu$ di diam., i due più piccoli misurano $18\,\mu$, gli altri hanno un volume intermedio. Mancano del tutto le sfere adipose. Anche in quest' uovo i singoli mitocondri sono ingrossati ed un po' diradati; da $0{,}3\,\mu$ di diam. che avevano nelle uova appena fecondate hanno raggiunto un diametro di quasi $1\,\mu$. Questa differenza è troppo costante perchè possa dipendere da ragioni d'indole tecnica. Non si può adunque mettere in dubbio che col progredire della segmentazione si abbia un progressivo rigonfiamento dei mitocondri.

Uovo uterino E di *Rhinolophus* segmentato in 11 blastomeri

(tav. XXXIII fig. 21); fissato nella miscela CHAMPY, cromizzato successivamente col procedimento BENDA e colorito col metodo ALTMANN-KULL.

Anche in quest' uovo troviamo ad un polo due blastomeri molto voluminosi (33.5 × 30 μ); i più piccoli misurano 21 × 19 μ.

Nello spazio perivitellino si trova qualche massa protoplasmatica, due delle quali molto grandi (tav. XXXIII fig. 21), affatto prive di mitocondri, e di costituzione omogenea. Le sfere adipose sono piccole e scarse.

Tutti i blastomeri senza eccezione racchiudono moltissimi mitocondri; a differenza che nelle altre uova, nelle quali questi organuli avevano una distribuzione uniforme, qui essi vanno divenendo più radi verso la periferia della cellula ed anzi la zona più marginale di quasi tutti i blastomeri ne è affatto priva.

È notevole che, nonostante il procedimento tecnico diverso dal consueto al quale fu sottoposto l'uovo, i mitocondri hanno i caratteri consueti; essi sono un poco più grossi e più radi che nelle prime fasi della segmentazione e talora tendono ad assumere una forma un poco irregolare.

Uovo di *Rhinolophus* G, contenuto nel segmento uterino della tuba, a 12 blastomeri (colorito col metodo ALTMANN-KULL).

La superficie dei blastomeri periferici aderisce alla pellucida (come nell' uovo E, tav. XXXIII fig. 21); mancano masse protoplasmatiche separate dall' uovo, Quasi tutti i blastomeri contengono qualche sfera lipoide, e, fatto insolito, qualche vacuolo.

Un uovo intorno ai 14 blastomeri[1]) (uovo uterino di *Rhinolophus* D) è riprodotto a fig. 22, tav. XXXIII. Numerosissime masse protoplasmatiche sono accumulate in una regione limitata dello spazio perivitellino; alcune di queste sono grandi, sferiche e ben conservate, altre disgregate, oppure trasformate in masse intensamente colorite (tav. XXXIII fig. 22).

Anche qui si notano differenze rilevanti nella grandezza dei vari blastomeri (i più grandi 27 × 20 μ, i più piccoli 19 × 17 μ di diam.); ed ai piccoli appartiene anche in questo caso il blastomero centrale.

Tutti poi contengono molte sfere adipose (tav. XXXIII fig. 22 e 23). In quanto ai mitocondri, il lettore si renderà facilmente conto dell' aumento di volume e del diradarsi progressivo di questi organuli, confrontando le figure 23 (tav. XXXIII) e 5 (tav. XXXI) le quali furono scrupolosamente riprodotte coll' apparecchio da disegno all' identico ingrandimento; la loro

[1]) La determinazione del numero dei blastomeri nei miei preparati, che veniva eseguita ricorrendo, come di solito, ad una ricostruzione grafica, era più difficile del consueto sopratutto per la sottigliezza delle sezioni nelle quali era stato suddiviso l'uovo (4—5 μ); la necessità di seguire ogni blastomero in un gran numero di sezioni ne rendeva arduo il conteggio. Perciò le mie determinazioni hanno un valore soltanto approssimativo.

affinità per le sostanze coloranti è rimasta invariata: in tutte le uova in segmentazione i mitocondri trattengono le sostanze coloranti (ematossilina o fucsina a seconda del metodo seguito), resistendo all' estrazione molto più dei condrioconti delle ghiandole o dell' epitelio uterino.

In altre due uova di *Vespertilio murinus* a 16 blastomeri, le modificazioni dei mitocondri sono pure molto evidenti; ed in qualche punto ho notato che anche la loro forma tende a modificarsi; il contorno non è più sferico, ma irregolare ed in qualche punto, assai di rado invero, tendono ad assumere una forma allungata.

Uova fra 20 e 100 blastomeri.

Uovo di *Vespertilio Blasii* E, nel quale si contano approssimativamente fra 22 e 26 blastomeri (tav. XXXII fig. 9).

Quest' uovo è sotto vari punti di vista molto interessante e ne daremo una descrizione particolareggiata; esso è compreso in 17 sezioni di 4 μ di spessore ciascuna, e di queste fu riprodotta la 5ª nella fig. 9, tav. XXXII; la figura non riproduce adunque una sezione mediana dell' uovo, bensì una sezione tangenziale. L'uovo risiede in una parte ristretta della cavità del corno uterino; per una metà della sua superficie esso è in contatto diretto coll' epitelio, mentre l'altra metà ne è separata da una massa compatta di cellule, le quali in maggioranza sono in degenerazione avanzata e sono intensamente ed uniformemente colorite dall' ematossilina ferrica; questi elementi sono tanto trasformati, che non è agevole determinarne la natura, ma suppongo che si tratti di cellule follicolari in degenerazione.

Anche in quest' uovo troviamo blastomeri di grandezza differente (da 25 μ × 23 μ a 19 μ); i superficiali aderiscono per tutta la loro estensione alla pellucida, dimodochè lo spazio perivitellino è virtuale; non si distinguono masse protoplasmatiche separate dall' uovo e neppure dei globuli polari rimane più traccia alcuna. Il deutoplasma è ridotto a rare e piccole sfere.

Su tutta la superficie dell' uovo quella porzione dei blastomeri superficiali che è rivolta verso la pellucida, essendo quasi priva di mitocondri, appare chiara e di struttura omogenea.

Modificazioni rilevanti sono intervenute nella forma dei mitocondri; come si rileva dalla fig 9, tav. XXXII, questi organuli son divenuti più radi, essi si decolorano più facilmente coll' allume, la grandezza di molti di essi è maggiore, ed altri si son trasformati in brevi e sottili bastoncini, rigidi o lievemente incurvati, che possiamo definire come condrioconti.

Non è facile di stabilire in quale maniera si produca la trasformazione dei granuli in condrioconti; escludo senz' altro che avvenga una seria-

zione ed una successiva fusione dei mitocondri granulari in un unico filamento; dato il volume relativamente notevole dei mitocondri a questo stadio, se i condrioconti si costituissero per fusione di mitocondri seriati, lo spessore dei condrioconti dovrebbe essere di gran lunga maggiore di quello che è in realtà.

Non vi può essere dubbio che ciascun condrioconto derivi da un unico mitocondrio allungato ed assottigliato; è probabile che quest' assottigliamento si produca in una sola direzione; lo induco almeno dalla presenza di qualche filamento sormontato da una capocchia.

Uovo uterino di *Vespertilio murinus* F segmentato in circa 80 blastomeri (una sezione fu riprodotta parzialmente a fig. 10, tav. XXXII); l'uovo ha una forma lievemente allungata, probabilmente per effetto della fissazione; ma prescindendo da questa lieve modificazione di forma, esso è ottimamente conservato; se il contorno dei blastomeri non si distingue, almeno nelle sezioni più sottili (tav. XXXII fig. 10), ciò dipende più che dalla fissazione, dall' estrazione del colore molto protratta, indispensabile per mettere in evidenza i mitocondri. Dato il rapporto intimo dei blastomeri colla superficie della pellucida, non esiste uno spazio perivitellino.

Il deutoplasma è rappresentato da goccioline di volume quasi eguale a quello dei mitocondri e si distinguono da questi ultimi soltanto per la loro tinta gialla.

I mitocondri hanno gli stessi caratteri descritti nell' uovo precedente; essi sono più radi, si decolorano facilmente, ed appaiono rigonfiati; inoltre accanto ai mitocondri troviamo molti condrioconti brevi, rigidi o lievemente incurvati.

Uovo uterino di *Rhinolophus* H segmentato in circa un centinaio di blastomeri; fissato nella miscela Champy, cromizzato col procedimento Benda e colorito col metodo Altmann-Kull (tav. XXXIII fig. 24). L'uovo si segue in 12 sezion i, delle quali fu riprodotta la 6ª.

In quest' uovo manca la pellucida; non vi può essere dubbio che la scomparsa di questa membrana dipenda dalla tecnica, perchè le numerosissime osservazioni eseguite da me e da altri Autori dimostrano che essa si conserva, almeno nei Chirotteri, a segmentazione inoltrata, ed anche lungo tempo dopo la comparsa del blastocele; probabilmente la pellucida di quest' uovo era meno ben conservata per effetto della fissazione diversa dalla consueta, e si è lacerata durante le manipolazioni successive. Fra tutti i fissatori da me usati, quello di Maximow modificato, conserva meglio di ogni altro la pellucida.

I blastomeri hanno forma sferica o poliedrica e grandezza quasi uni-

forme (fra 10 e 13 μ). In qualche blastomero si distinguono piccole goccie di grasso, talora in numero rilevante.

Il condrioma in quasi tutte le cellule è andato incontro ad importanti modificazioni; mentre nell' uovo precedentemente descritto prevalevano ancora i mitocondri, qui troviamo quasi dappertutto filamenti brevi e tozzi (tav. XXXIII fig. 24) lievemente incurvati ed anche sinuosi.

In quest' uovo noi abbiamo sotto gli occhi varie fasi della trasformazione dei mitocondri, la quale si compie indubbiamente nella maniera alla quale accennammo più sopra; i mitocondri incominciano ad allungarsi, assumono dapprima la forma di corti bastoncini, poi s'assottigliano, s'incurvano, e, quando hanno raggiunta una certa lunghezza, possono acquistare un tragitto sinuoso. Alcuni blastomeri sono caratterizzati da condrioconti sottili e sinuosi, altri da un condrioma meno differenziato; però in una stessa cellula troviamo quasi sempre mitocondri accanto a condrioconti; questi ultimi sono quasi dappertutto in grande prevalenza, come appare dalla fig. 24, tav. XXXIII.

In quanto alla distribuzione del condrioma, anche qui ho notato che esso è raccolto prevalentemente intorno al nucleo, mentre il citoplasma periferico ne contiene un numero scarso, oppure ne è affatto privo.

Nell' uovo uterino di *Vespertilio Blasii* F noi assistiamo alla formazione del blastocele. A differenza da quanto ha osservato van Beneden in stadi corrispondenti nel *Vespertilio murinus*, qui la prima comparsa della cavità non è accompagnata nè da aumento di volume dell' uovo, nè da assottigliamento della pellucida. Anche in quest' uovo, come in alcune uova in segmentazione, qualche cellula superficiale è mantenuta discosta dalla pellucida da una sostanza omogenea assai tenue (fig. B).

La cavità blastodermica ha già una discreta estensione in un segmento dell' uovo (fig. B); in varî punti esistono poi delle lacune di varia ampiezza che sono destinate a confluire colla cavità principale. In quest' ultima si trovano delle masse protoplasmatiche sferiche a contorno netto ed a struttura omogenea (fig. B) in parte libere nella cavità, in parte in connessione colle cellule della massa interna. Queste masse rappresentano evidentemente delle cellule in degenerazione avanzata, dalle quali sono scomparsi tanto il nucleo che i mitocondri; la loro regressione contribuisce, come suppone van Beneden, all' aumento in estensione della cavità blastodermica.

A questo stadio si può chiaramente riconoscere lo strato avvolgente dalla massa cellulare interna; gli elementi del primo sono un po' appiattiti, specialmente ove essi prospettano verso il blastocele.

Le cellule di quest' uovo contengono numerose e grosse sfere adipose;

il che dimostra che la diminuzione del materiale deutoplasmatico da noi osservata in altre uova durante la segmentazione, non è un fatto costante.

I condriosomi si trovano prevalentemente in forma di granuli; si trovano qua e là dei mitocondri che tendono ad acquistare una forma allungata ed anche dei condrioconti brevi e tozzi; ma la trasformazione dei mitocondri in condrioconti è meno progredita che nelle uova a segmentazione inoltrata che furono da me precedentemente descritte.

Figura B.



Uovo uterino di *Vespertilio Blasii* F nel quale s'incomincia a formare il blastocele. — Ingr. 1800 ×.

Sebbene quest' uovo apparisse ben conservato, io suppongo che un aspetto del condrioma così diverso da quello da me osservato tanto in fasi antecedenti, che in quelle immediatamente successive, dipenda da deficienze tecniche. Una lunga esperienza da me acquistata sugli effetti che ha la fissazione sulla forma dei condriosomi mi ha convinto, che i condriosomi

sono organuli straordinariamente labili, dimodochè condizioni svariate, la più gran parte delle quali ci sfugge, possono trasformare artificialmente dei filamenti in granuli; ed i condrioconti in queste precoci fasi dello sviluppo dei Mammiferi sono anche più labili di quelli di altri elementi. Io suppongo adunque che la forma granulare del condrioma da me riscontrata in quest' uovo, sia un artefatto dipendente dalla fissazione.

V. I condriosomi nelle blastocisti sino alla formazione della cavità amniotica.

Notizie bibliografiche. Le osservazioni fino ad oggi eseguite su questo stadio dello sviluppo sono oltremodo scarse e frammentarie.

Duesberg (1910) ne dà solo un brevissimo cenno; nei foglietti di un embrione di coniglio di 5 giorni trova qualche filamento accanto a granulazioni piene o cave e manifesta il convincimento, che i filamenti derivino da trasformazione dei granuli vescicolosi, da lui visti nelle uova in segmentazione (vedi p. 484). Rilevo che nella sua recente rivista sintentica Duesberg (1913) riassumendo le proprie osservazioni sui condriosomi dell' uovo di coniglio, afferma che i condrioconti si costituiscono per allineamento di granuli. »In den weiteren Stadien reihen sich die Körner auf und fließen zusammen, so daß sie Stäbchen bilden.« All' incontro nella pubblicazione originale non si fa parola di seriazione di granuli, bensì si afferma che »une partie de ces chondriosomes s'allongent et se transforment en filaments de longueur variable . . .«

Secondo Rubaschkin (1910) in blastocisti di cavia nelle quali l'inversione dei foglietti è digià compiuta, i mitocondri in alcune cellule conservano la loro forma granulare originaria, in altre vanno, almeno in parte, incontro a trasformazioni sensibili; nelle cellule dell' ectoderma formativo molti mitocondri sono allineati in catenelle (condriomiti) ed in qualche cellula eccezionalmente si trovano anche condrioconti lisci.

I mitocondri si accumulano nel segmento esterno di queste cellule, mentre i condriomiti si dispongono nella parte della cellula che è rivolta verso la cavità amniotica. Nelle cellule del foglietto interno i mitocondri conservano dappertutto la forma granulare e sono molto scarsi.

Osservazioni personali. Blastociste *a* di *Rhinolophus* del tutto libera nella cavità uterina, di $100 \times 140\ \mu$ di diametro; essa si segue in 23 sezioni di $4\ \mu$ di spessore; il piano di sezione è un po' obliquo rispetto all' asse dell' uovo (tav. XXXIII fig. 25 e tav. XXXIV 26).

Questa blastociste è di poco più inoltrata di quella indicata da Duval colla lettera S e corrisponde presso a poco a quella riprodotta nella fig. 51 nel lavoro postumo di van Beneden. Ebbene io noto con sorpresa che nel caso nostro la blastociste è libera, mentre nei due casi sopracitati essa non soltanto aderisce alla parete uterina, ma quest' aderenza è accompagnata (almeno nell' uovo di Duval) da una profonda alterazione dell' l'epitelio uterino. Noi vedremo più oltre coll' esame di stadi più inoltrati, che la fissazione dell' uovo all' utero sembra compiersi molto più tardi di quanto risulti dalla descrizione degli altri Autori.

La blastociste è un po' appiattita dall' alto in basso.

La fig. 25, tav. XXXIII (la 6ª della serie) riproduce una sezione periferica della blastociste, la quale ha colpito tangenzialmento il polo embrionario ed un segmento limitato della rimanente parete della blastociste; all' incontro nella fig. 26, tav. XXXIV (la 13ª della serie) è riprodotta una sezione quasi mediana della blastociste e perciò, la cavità blastodermica ha un' estensione un po' maggiore di quanto appaia dalla fig. 25, tav. XXXIII.

La membrana pellucida è un poco assottigliata, evidentemente in conseguenza dell' aumento di ampiezza del blastocele e della consecutiva distensione della sua parete.

Il bottone embrionario sporge nell' interno del blastocele (tav. XXXIV fig. 26); la parete della blastociste è costituita dallo strato avvolgente, il quale aderisce intimamente alla pellucida; questo strato risulta di elementi un poco schiacciati in direzione perpendicolare alla superficie della blastociste; in corrispondenza del polo embrionario lo strato avvolgente ricopre il bottone embrionario (tav. XXXIV fig. 26) interponendosi fra quest'ultimo e la pellucida.

Il materiale adiposo si presenta in molte cellule in forma di voluminose sfere (tav. XXXIII fig. 25 e 26, tav. XXXIV), in altre di piccole granulazioni (fig. 26).

Il condrioma ha subito trasformazioni assai rilevanti. Come appare dalle fig. 25, tav. XXXIII e fig. 26, tav. XXXIV, i mitocondri si sono in quasi tutte le cellule trasformati in condrioconti più sottili e più lunghi che in fasi antecedenti.

I grossi mitocondri delle uova a 50—100 blastomeri sono stati dappertutto sostituiti da condrioconti. Il decorso di questi è sinuoso, ed è per tale condizione appunto che solo in circostanze particolarmente favorevoli noi possiamo renderci conto della reale lunghezza dei condrioconti; nelle sottili sezioni essi vengono quasi dappertutto frammentati dal taglio ed appaiono più brevi di quello che essi siano in realtà.

Che le cose stiano realmente così è dimostrato dal fatto, che quando le cellule dello strato avvolgente od anche quelle del bottone embrionario sono colpite dalla sezione in un piano paralello al loro maggior asse, i condrioconti si presentano più lunghi che quando il piano di sezione colpisce le cellule perpendicolarmente al loro asse maggiore. Essendo i condrioconti in queste cellule orientati quasi tutti paralellamente all' asse maggiore, noi ci troviamo nel primo caso in condizioni più favorevoli per sorprenderli in tutto il loro decorso.

Condrioconti molto lunghi ho trovato nelle cellule in mitosi (tav. XXXIV fig. 26); sembra che durante la divisione cellulare i condrioconti di questi

elementi tendano ad irrigidirsi, analogamente a quanto fu da me osservato nelle mitosi delle cellule somatiche dell' ovario (1913).

Non vi può esser dubbio adunque che la comparsa della cavità blastulare è accompagnata da una differenziazione abbastanza rapida dei mitocondri in condrioconti. Ad un' indagine superficiale si riceve l'impressione che il condrioma sia in ciascuna cellula aumentato; ma in realtà non si tratta di un' aumento nel numero dei condriosomi: l'apparente aumento dipende più che altro dall' accrescimento in lunghezza dei singoli condriosomi.

Blastociste β di *Rhinolophus* fissata in liquido di Maximow modificato e colorita col metodo Altmann-Kull (tav. XXXIV fig. 27, 28 e 29).

Questa blastociste, la quale occupa 42 sezioni di 4 μ di diametro, ha forma sferica e misura 200 μ di diam.; il suo segmento superiore è in intimo contatto coll' epitelio uterino, il quale si infossa in cripte ghiandolari poco profonde (tav. XXXIV fig. 28); il suo segmento inferiore sporge liberamente nella cavità uterina e si trova ancora ad una certa distanza da quel tratto della parete uterina che presenta profonde cripte (cuscinetto villoso di Duval).

Il contatto fra il segmento superiore dell' uovo e quei tratti di epitelio uterino che sono interposti fra gli sbocchi delle ghiandole, si stabilisce per mezzo della membrana pellucida *p*, la quale pur essendo molto assottigliata, riveste tutta la superficie della blastociste; evidentemente l'aumento in grandezza notevolissimo dell' uovo, dipendente dalla maggiore ampiezza del lecitocele, ha determinato una distensione ed un' assottigliamento di quella membrana.

Rileviamo che anche in questo caso l'epitelio uterino *ep. u.* era perfettamente integro nella regione ove si stabilisce il contatto fra la pellucida dell' uovo e l'epitelio stesso; i condrioconti avevano nelle sue cellule una disposizione tipica ed era anche conservato l'orletto cuticolare finamente striato esistente costantemente sulla faccia libera delle cellule di quegli elementi.

Mi riesce adunque inesplicabile come altri Autori (Duval, van der Stricht e van Beneden) ad uno stadio corrispondente abbiano trovato l'epitelio uterino completamente distrutto (come nella blastociste U di Duval).

La supposizione che si tratti di una caratteristica speciale delle uova di *Rhinolophus* cade di fronte al fatto, che ho notata la stessa integrità dell' epitelio anche in uteri contenenti blastocisti di *Vespertilio Blasii*. Perciò non mi resta altro che supporre che la presunta distruzione dell' epitelio dipendesse da imperfetta conservazione del materiale.

Nella blastociste di cui ci occupiamo, di pari passo all' ampliamento del blastocele, il bottone embrionario è diminuito di spessore e si è esteso alquanto in superficie e le cellule della porzione extraembrionaria della

parete della blastociste, le quali formano un' unico strato, si sono maggiormente appiattite; queste ultime si continuano al disopra del bottone embrionario in elementi assai appiattiti, quasi lamellari, interposti fra quel bottone e la pellucida *p*; complessivamente costituiscono lo strato avvolgente od ectoderma primitivo (van Beneden) *str. avv.* (tav. XXXIV fig. 28).

Le cellule del bottone embrionario hanno forma affusata e sono disposte nel centro del bottone in tre strati; verso i margini questo si assottiglia per riduzione nel numero e nello spessore delle cellule. Come appare dalle figure 27 e 28, tav. XXXIV il bottone embrionario termina con un margine libero; nessuna continuità esiste fra i suoi elementi e quelli dello strato avvolgente. L'entoderma (*ent.*) si riconosce facilmente come uno strato distinto alla faccia profonda del bottone ed esso si arresta lungo il contorno di questo.

Incominciamo ad analizzare i caratteri citologici degli elementi della blastociste. Nel citoplasma omogeneo di tutte le cellule dello strato avvolgente *str. avv.* senza eccezione alcuna, sono contenuti dei condrioconti ben individualizzati e coloriti con grande elettività dalla fucsina, mai delle forme granulari: di fronte a quelli dell' epitelio uterino *ep. u.* sono più brevi ed un po' più tozzi; essi decorrono rigidi o più spesso incurvati (tav. XXXIV fig. 28 e 29); inoltre non sembrano avere un' orientazione determinata, ed anche in ciò differiscono da quelli dell' epitelio uterino, i quali sono diretti paralellamente al maggior asse della cellula. Tanto nelle sezioni che colpiscono queste cellule di profilo (tav. XXXIV fig. 28), che in quelle paralelle alla superficie (tav. XXXIV fig. 29) i condrioconti appaiono intrecciati in tutte le direzioni; per ragioni ovvie le sezioni paralelle alla superficie (tav. XXXIV fig. 29) sono le più opportune per dare un' idea della distribuzione dei filamenti in cellule come queste di forma appiattita; poichè quando il taglio le colpisce perpendicolarmente alla superficie le probabilità di frammentare i condrioconti sono maggiori.

Nelle cellule del bottone embrionario, più grandi delle precedenti, il nucleo anche qui racchiude uno e due grossi nucleoli, il citoplasma contiene quasi dappertutto dei condrioconti; questi sono per lo più relativamente lunghi ed anche sinuosi, in altre cellule più brevi ed appena lievemente incurvati: dal confronto fra la fig. 26 e le fig. 28 e 29, tav. XXXIV si rileva che in molte cellule l'evoluzione dei condrioconti è progredita.

Ma alcune poche cellule del bottone embrionario racchiudono esclusivamente mitocondri granulari piuttosto grossi, altre dei bastoncini corti e tozzi, che evidentemente rappresentano forme di transizione fra mitocondri e condrioconti (tav. XXXIV fig. 28). Talora ritroviamo in una stessa cellula le più varie forme di condriosomi.

Gli elementi contenenti mitocondri non si trovano esclusivamente, come appare dalla figura, nell' entoderma, ma l'esame accurato di tutta la serie mi convinse che essi sono sparsi anche fra gli elementi degli strati sovrastanti; e la presenza di numerose forme di passaggio fra mitocondri e condrioconti fa supporre, che anche le poche forme granulari che troviamo tuttora, siano destinate ad evolversi ulteriormente.

Un' altra blastociste, che per la sua perfetta conservazione merita pur essa di essere studiata attentamente, è la blastociste A di *Vespertilio Blasii* (tav. XXXII fig. 11 e 12). La direzione del taglio è però meno favorevole che nel caso precedente; è colpito tangenzialmente il bottone embrionario in un piano obliquo rispetto al piano equatoriale della blastociste; la fig. 11 riproduce appunto una di queste sezioni, nella quale appare il bottone embrionario tagliato obliquamente. L'ampiezza del blastocele nella fig. 11 appare minore di quello che risulterebbe in sezioni meridiane della blastociste.

La membrana pellucida è scomparsa. L'entoderma ha una maggior estensione che nella blastociste precedente, spingendosi su tutta la faccia interna dello strato avvolgente.

Gli elementi dell' entoderma sono lamellari, lievemente rigonfi soltanto in corrispondenza del nucleo, congiunti fra loro per i margini in un vero sincizio, e di profilo appaiono come listerelle sottilissime; le cellule dello strato avvolgente sono un poco più alte delle precedenti. I condrioconti hanno ormai l'identica forma tanto nello strato avvolgente che nel bottone embrionario; si tratta di filamenti più sottili, più lunghi e più sinuosi che nella blastociste antecedente (vedi la fig. 12, tav. XXXII la quale ri produce degli elementi del bottone embrionario in sezione tangenziale). I mitocondri granulari non si ritrovano più in veruna cellula ed evidentemente si sono trasformati in filamenti.

In uno stadio successivo, rappresentato da una blastociste di *Rhinolophus* di 0,52 × 0,35 mm., la fissazione alla parete uterina è già avvenuta; tutta la parete della blastociste aderisce all' epitelio uterino, il quale è distrutto soltanto in punti limitati (a livello dell' area embrionaria esso è in totalità conservato, pur presentando segni di degenerazione).

Il bottone embrionario sporge alquanto verso il blastocele; esso è costituito da elementi cospicui, i quali contengono condrioconti; però la colorazione di questi organuli è riescita meno perfettamente che nelle altre blastocisti.

La blastociste A di *Vespertilio mur.* di 0,5 × 0,25 mm. di diam. è in totalità fissata alla parete uterina; l'epitelio dell' utero è distrutto.

Il blastocele è più piccolo che nella blastociste precedente e gli ele-

menti dell' entoderma e dello strato avvolgente sono meno appiattiti; specialmente quelli del secondo strato hanno forma cubica e sono ricchi di citoplasma; i condrioconti sia nell' area embrionaria che nell' extra-embrionaria sono lunghi, lisci, flessuosi (tav. XXXII fig. 13).

Nella blastociste di *Miniopterus* B (tav. XXXII fig. 14) il bottone embrionario ha acquistato una forma globosa e sporge verso la cavità blastodermica, come appare del resto dalla fig. 14, la quale riproduce un tratto della parete della blastociste al limite fra bottone embrionario e regione extraembrionaria: aggiungo che nella figura è disegnato soltanto lo strato profondo dell' ectoderma primitivo. Evidentemente questa sporgenza è una conseguenza dell' ispessimento dell' ectoderma, che si è trasformato nella cosidetta massa amniotica (Duval).

La blastociste è in contatto col corion della mucosa uterina; soltanto qualche cellula dell' epitelio uterino in degenerazione avanzata persiste qua e là. Il limite fra blastociste e tessuto uterino è molto netto, nonostante la presenza di qualche gemma epiteliale proveniente dall' ectoderma primitivo *ec. p.* (il quale deriva dallo strato avvolgente), che si spinge nel corion uterino.

L'ectoderma primitivo *ec. p.* a livello del bottone embrionario è ispessito e si va assottigliando nella regione placentare extraembrionaria di van der Stricht (1899) (anello placentare di Nolf) tav. XXXII fig. 14; più distalmente ancora si riduce ad un' unico strato di cellule. Le cellule dell' ectoderma primitivo sono piccole e si distinguono da quelle dell' ectoderma definitivo del bottone embrionario per il loro colorito più chiaro.

Fra ectoderma primitivo e definitivo trovo qualche lacuna a forma allungata (tav. XXXII fig. 14): altre lacune più piccole si trovano fra le cellule dell' ectoderma definitivo e queste, secondo Duval, preludiano alla comparsa della cavità amniotica, interpretazione che non è accettata da van der Stricht (1899). —

In quanto ai caratteri citologici degli elementi di questa blastociste, rileviamo anzi tutto il loro piccolo volume di fronte a quelli delle blastociste più giovani. Tutte le cellule della blastociste, senza eccezione alcuna, contengono condrioconti numerosi, lunghi, flessuosi e sottili; questi organuli sono certamente cresciuti di lunghezza, si sono assottigliati, e sono aumentati di numero coll' evolversi della blastociste. Tali differenze sono particolarmente sensibili nelle cellule dell' entoderma e sono più appariscenti, per le ragioni già esposte, quando per l'obliquità del taglio le cellule sono sezionate paralellamente alla superficie; e ciò appunto è avvenuto nel caso nostro.

Blastociste di *Vespertilio murinus* E. — Si è costituita la cavità amniotica in forma di una fessura fra l'ectoderma embrionario a cellule

cilindriche e quello placentare, raggiungendo la sua massima ampiezza nella parte media del bottone embrionario ed assottigliandosi verso i margini. L'ectoderma embrionario sporge molto meno verso la cavità blastodermica.

L'ectoderma primitivo, che ormai passiamo chiamare senz' altro ectoderma placentare, e che forma la volta della cavità amniotica, è rappresentato da un sincizio di elementi a protoplasma chiaro, a grossi nuclei (plasmodiblasto di van Beneden); e nell' anello placentare esso aderisce direttamente al citoblasto (abbozzo delle pieghe amniotiche)[1]). Lo stadio raggiunto da questa blastociste corrisponde con una certa approssimazione a quello illustrato da Duesberg nel coniglio (vedi pag. 496).

Le cellule cilindriche dell' ectoderma embrionario sono caratterizzate da condrioconti lunghi e sinuosi orientati in maggioranza paralellamente all' asse maggiore; quelle dell' entoderma a forma cubica contengono condrioconti pure lunghi e sinuosi ma senza orientazione determinata.

VI. I condriosomi nei blastodermi dalla comparsa della linea primitiva sin dopo la chiusura della doccia midollare.

Notizie bibliografiche. Anche su questo periodo dell' ontogenesi furono eseguite finora scarse osservazioni. Duesberg (1910) in embrioni di coniglio di 10 giorni, cioè con canal midollare completamente chiuso, trovò imagini analoghe a quelle dell' embrione di pollo dello stesso stadio.

Rubaschkin (1910) ha trovato che lo stadio della linea primitiva è caratterizzato nella cavia da un grande sviluppo di condrioconti nella parte anteriore dell' embrione, mentre gli elementi del tratto caudale si rivelano meno differenziati. È sopratutto nelle cellule cilindriche della placca midollare che prevalgono le forme a bastoncino od a lungo filamento tortuoso, che percorrono tutta la cellula dall' alto in basso, mentre le cellule ectodermiche basse della parte laterale dell' embrione contengono quasi esclusivamente condriosomi granulari. Nell' abbozzo della corda dorsale si trovano accanto ai condrioconti, anche dei mitocondri e dei condriomiti; nel rimanente dell' entoderma al posto dei filamenti si trovano soltanto dei mitocondri.

Le cellule del mesoderma contengono corti bastoncini sparsi irregolarmente nel citoplasma, accanto a forme granulari.

Nella parte caudale dell' embrione, in tutti e tre i foglietti, i condriosomi sono in forma di mitocondri e di condriomiti; e le cellule entodermiche di questa regione contengono esclusivamente granuli isolati.

Da queste osservazioni l'A. conclude, che la forma primitiva dei condriosomi è la granulare e che col progredire della differenziazione i granuli si allineano in catenelle e si trasformano in filamenti.

L'A. ha dedicato un altro capitolo all' analisi delle differenze citologiche fra cellule somatiche e germinali; Rubaschkin è convinto che le seconde siano sempre caratterizzate dalla forma granulare del condrioma e che perciò in periodi inoltrati dello sviluppo,

[1]) Tralascio di descrivere i caratteri degli elementi destinati a dar origine alla placenta, perchè quest' argomento sarà da me svolto in un'altro lavoro di imminente pubblicazione.

quando il condrioma delle cellule somatiche è divenuto filamentoso, le cellule sessuali si distinguono con grande evidenza dalle somatiche.

Nell' abbozzo del corpo genitale, i gonociti, riconoscibili anche per le loro maggiori dimensioni, secondo R., contengono sempre mitocondri, mentre le cellule somatiche dell' abbozzo stesso e quelle delle regioni circostanti contengono condrioconti. I gonociti del corpo genitale si originerebbero dagli elementi della parte caudale dell' embrione, nei quali non è avvenuta la trasformazione dei mitocondri in condrioconti, che è costante in tutte le cellule somatiche ad un determinato periodo dello sviluppo. Nei gonociti si conserverebbe adunque la forma granulare primitiva del condrioma.

Osservazioni personali. Blastociste di *Rhinolophus* C (tav. XXXIV fig. 30); fissata come di consueto, colorita col metodo Altmann-Kull. L'utero, e per conseguenza il blastoderma, fu sezionato sagittalmente.

La cavità amniotica *c. a.* è molto ampia ed è delimitata dall' ectoderma placentare (plasmodiblasto) *ec. pl.* in alto, dall' ectoderma embrionario *ec.* in basso (tav. XXXIV fig. 30). La fusione fra ectoderma placentare e corion della mucosa uterina è ormai molto intima.

Il citoblasto *c. bl.* si spinge al di sotto del plasmodiblasto nella parte periferica della volta della cavità amniotica (tav. XXXIV fig. 30) unendosi al margine dell' ectoderma embrionario; la zona nella quale si stabilisce la continuità fra i due foglietti corrisponde all' abbozzo della piega amniotica.

L'ectoderma embrionario *ec.* è pianeggiante; la sporgenza che esso prima formava verso la cavità blastodermica è del tutto scomparsa; è costituito da due strati di cellule cilindriche alte, orientate perpendicolarmente alla superficie del blastoderma; i nuclei sono voluminosi, di forma ovale, il citoplasma non molto abbondante contiene dei condrioconti lunghi, tortuosi, diretti lungo l'asse maggiore della cellula.

L'entoderma *ent.* è in tutta la blastociste costituito da un solo strato di cellule basse e soltanto nella parte craniale dell' embrione (tav. XXXIV fig. 30) s'ispessisce alquanto, come anche altri Autori hanno notato; le sue cellule sono dirette paralellamente alla superficie della blastociste e contengono condrioconti sinuosi senza orientazione caratteristica; nè nelle cellule dell' ectoderma, nè in quelle dell' entoderma ho trovato mai dei condriosomi granulari.

Nella parte caudale del blastoderma si nota una fusione fra ectoderma ed entoderma; si tratta evidentemente del primo abbozzo della linea primitiva (placca assiale); ed in quella regione la forma cilindrica delle cellule ectodermiche è meno spiccata ed i condrioconti non hanno più l'orientazione caratteristica.

Nel blastoderma di *Vespertilio Blasii* x, caratterizzato dalla presenza della linea primitiva e dall' estendersi del mesoderma sino all' estre-

mità craniale dell' embrione, non troviamo modificazioni citologiche degne di menzione.

Blastoderma di *Vespertilio murinus* G: sezionato trasversalmente. Stadio di placca midollare depressa nella parte assile in una doccia larga e superficiale. L'ectoderma unistratificato ai margini s'ispessisce bruscamente in due strati di cellule cilindriche; le due metà della doccia sono riunite da una placca commessurale sottile a cellule cubiche (tav. XXXII fig. 15); in intimo rapporto con quest' ultima si trova la placca cordale, la quale si presenta in forma di un epitelio ad un unico strato di cellule cubiche (tav. XXXII fig. 15. *pl. c.*).

Lateralmente la placca cordale si continua, almeno apparentemente, nello strato superficiale del mesoderma. Questo foglietto non ha i caratteri di un epitelio, ma le sue cellule sono discontinue e si trovano disseminate irregolarmente. Un unico strato di piccole cellule cubiche a scarso citoplasma costituisce l'entoderma, ed esso s'arresta ai margini della placca cordale (tav. XXXII fig. 15).

Passiamo ai caratteri citologici dei foglietti dell' embrione; nelle cellule cilindriche della parte dell' ectoderma posta lateralmente alla placca midollare i condrioconti sono brevi, sinuosi ed intrecciati in tutti i sensi; essi sono principalmente raccolti nelle porzioni di citoplasma sovrastanti e sottostanti al nucleo.

All' incontro nei due strati di cellule cilindriche della placca midollare (tav. XXXII fig. 15 e 16 *pl. m.*) i condrioconti sono divenuti meno tortuosi e sono orientati paralellamente all' asse della cellula, fuorchè in quella parte delle cellule superficiali che guarda verso l'esterno, e nelle parte basale delle cellule profonde, ove i condrioconti s'intrecciano (tav. XXXII fig. 15 e 16); analoga disposizione noto nelle cellule più basse della placca commessurale. Aggiungo che in tutte le cellule della placca midollare i condrioconti sono numerosissimi; mancano del tutto altre varietà del condrioma.

Nelle cellule cubiche della placca cordale *pl. c.* troviamo esclusivamente condrioconti (tav. XXXII fig. 15), ma più scarsi, in forma di brevi lineette incurvate; inoltre essi si decolorano più facilmente di tutti gli altri condrioconti del blastoderma. Tenendo conto adunque dei caratteri di questi organuli, noi possiamo affermare, che le cellule della placca cordale hanno un' impronta citologica diversa da quella degli altri elementi del mesoderma.

Le cellule del mesoderma *m.* sono piccole, a forma irregolare e nel citoplasma sono addensati in numero stragrande i condrioconti; quando queste cellule entrano in mitosi ed il volume della cellula aumenta, i condrioconti diventano, com' è ovvio, meno tortuosi.

Nelle cellule dell' entoderma *ent.* i condrioconti sono un po' più scarsi

e più brevi che negli altri foglietti, probabilmente in rapporto al piccolissimo volume di questi elementi.

Blastoderma di *Vespertilio murinus* H; doccia midollare aperta in tutto il blastoderma; i suoi labbri sono ravvicinati nella regione nucale; gli abbozzi degli organi visivi hanno la forma delle »foveolae opticae«.

Un' orientazione di alcuni condrioconti paralella all' asse della cellula s'osserva, oltre che nelle cellule della doccia midollare, anche in quelle cilindriche dell' ectoderma tegumentario (fig. C).

Figura C.



Ectoderma tegumentazio del blastoderma di *Vespertilio murinus* H con doccia midollare aperta in tutta la sua lunghezza. — Ingr. 1800 ×.

Embrione di *Vespertilio murinus* F; doccia midollare chiusa, fuorchè nella regione cefalica e caudale. Cresta neurale ben distinta; le due aorte si mantengono pari in tutto il loro decorso.

I condrioconti son divenuti molto lunghi in tutte le cellule dell' embrione; nella parete della doccia e rispettivamente del canal midollare, i condrioconti sono allineati perpendicolarmente alla superficie (tav. XXXIII fig. 17 e 18); ed anche qui verso la superficie esterna ed interna della parete, ove il citoplasma è più abbondante, i condrioconti son più sinuosi ed intrecciati (tav. XXXIII fig. 18).

Al limite fra l'ectoderma ed il margine della doccia midollare, gli elementi della cresta neurale (tav. XXXIII fig. 17 *cr. g.*) risaltano di fronte alle cellule ectodermiche, oltre che per il maggior volume, anche per il gran numero di condrioconti intrecciati che contengono. Lo stesso s'osserva anche in quella parte della cresta neurale che corrisponde al canal midollare.

Nelle cellule della corda dorsale i condrioconti sono brevi e scarsi.

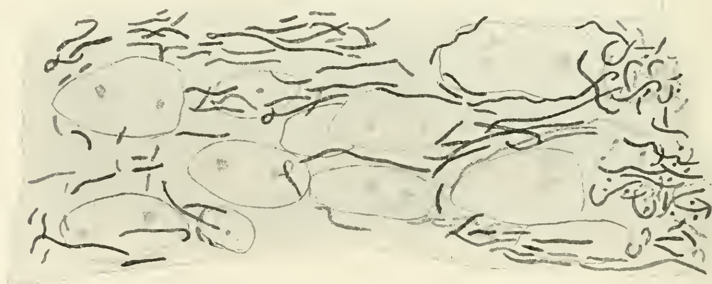
Nelle cellule cilindriche dei somiti mesodermici hanno forma e distribuzione simili a quelle del canal midollare (tav. XXXIII fig. 19).

Nessuna differenza nei caratteri citologici esiste fra gli elementi della parte craniale e quelli della parte caudale del tronco, contrariamente a quanto afferma Rubaschkin (1910) per stadi corrispondenti; negli uni e negli altri trovo esclusivamente condrioconti.

Embrione di *Vespertilio murinus* E. — Il canal midollare si apre soltanto all' estremo caudale dell' embrione. Organo visivo in forma di infundibuli oculari. Fossette acustiche. Tasche ectodermiche branchiali.

Nel canal midollare i condrioconti conservano l'orientazione consueta ed anche a questo stadio s'intrecciano nella parte periferica delle cellule (tav. XXXIII fig. 20, fig. D); la loro lunghezza è ancora sensibilmente aumentata, tanto che non di rado si estendono ininterrotti da un estremo all' altro della cellula; il loro aumento in lunghezza appare evidente da un confronto fra le figure 18, tav. XXXIII e D.

Figura D.



Parete del canal midollare dell'embrione E di *Vespertilio murinus*. — Ingr. 1800 ×.

Anche qui noto nelle cellule in mitosi dello strato germinativo del canal midollare, che in rapporto al turgore del citoplasma i condrioconti tendono a divenire meno sinuosi.

Le cellule della corda dorsale contengono condriosomi scarsi e brevi. Nel somite soltanto la parete dorsale ha mantenuto il carattere epiteliale. In quasi tutti i somiti, fuorchè nei più caudali, naturalmente meno differenziati, la parte ventrale ha quasi completamente perduto il suo aspetto epiteliale.

Le cellule cilindriche della suddetta parete dorsale hanno un' impronta caratteristica; le più profonde hanno forma conica, colla base rivolta verso il cosidetto nucleo del miotomo (*Uk* Urwirbelkern) e l'apice verso la periferia (fig. E); il nucleo risiede nel centro della cellula; nella parte

basale vediamo in numero grandissimo dei lunghi condrioconti ondulati, ma orientati paralellamente all' asse maggiore; alcuni fra questi si prolungano nel citoplasma perinucleare, ove divengono più rigidi; anche il tratto distale affilato della cellula contiene dei condrioconti.

Le cellule più superficiali della parete hanno esse pure forma conica, ma sono più piccole delle precedenti e la loro base è rivolta verso la superficie, l'apice si spinge nell' interstizio fra due cellule più profonde. I condrioconti hanno nella parte basale della cellula una disposizione irregolare, si orientano paralellamente all' asse più distalmente (fig. E).

Figura E.



Parete dorsale di un somite dell'embrione E di *Vespertilio murinus*. — Ingr. 1800 ×
Uk elementi contenuti nel centro del somite (Urwirbelkern).

Tralascio di descrivere il condrioma in altri organi dell' embrione, perchè questo mi condurrebbe ad inutili ripetizioni; in nessun organo troviamo ancora un' impronta citologica specifica; la disposizione dei condrioconti è dappertutto in correlazione colla forma della cellula.

Anche nell' epitelio intestinale trovo soltanto dei condrioconti; non vi ho mai riscontrato quelle cellule a mitocondri granulari alle quali accenna

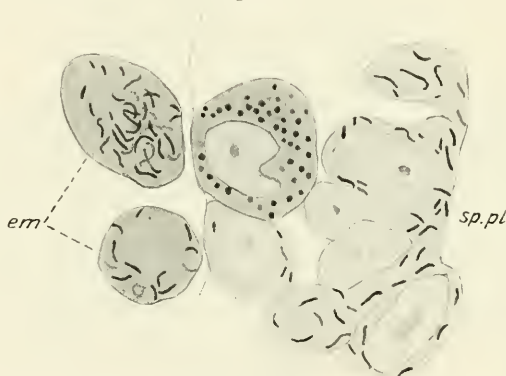
Rubaschkin (1910) e che sarebbero da interpretarsi come gonociti destinati ad emigrare nella regione del corpo genitale.

Nel mesentere ho trovato, è vero, delle cellule a condrioconti più tozzi che negli altri elementi dell' embrione; non vorrei però dar troppa importanza a questo fatto, perchè, data la sede profonda di queste cellule, non è improbabile che esse siano riescite fissate meno perfettamente.

Soltanto in una regione molto limitata di quest' embrione ho riscontrato delle cellule in numero assai esiguo, la di cui morfologia si avvicina a quella che Rubaschkin definisce come caratteristica dei gonociti.

Questa regione corrisponde presso a poco a quella del futuro corpo genitale; al disotto dell' epitelio della splancnopleura (fig. F, *sp. pl.*), fra questo e la parete di un' arteria omfalomesenterica, trovo qualche rara cellula a forma sferica, un poco più voluminosa delle altre, con nucleo

Figura F.



Dalla parete del celoma dell'embrione E; foglietto viscerale della parete della cavità celomatica fra la splancnopleura *sp.pl.* e l'arteria omfalomesenterica (nella quale sono contenuti dei globuli rossi *em*) si trova una grossa cellula con mitocondri (gonocita?). — Ingr. 1800 ×.

reniforme e citoplasma più scuro, la quale contiene condriosomi nettamente granulari; un carattere che le differenzia dagli elementi circostanti, sia da quelli dell' epitelio celomatico che dagli elementi del sangue (fig. F *em*) contenuti nel lume dell' arteria, i quali tutti contengono nel citoplasma esclusivamente dei condrioconti. Questo reperto è troppo isolato perchè esso possa aver valore in favore della tesi di Rubaschkin. Il ritrovare in un solo stadio dello sviluppo delle cellule a condriosomi granulari non ci dà il diritto di concludere, che gli elementi del ciclo germinale hanno un carattere citologico specifico.

D'altro canto, anche se si vuol ammettere che ad un determinato

periodo dello spiluppo i gonociti siano caratterizzati da mitocondri, la portata generale della tesi di Rubaschkin è diminuita dalla circostanza, che questo carattere non è comune ai gonociti di tutti gli animali, come si rileva dalle mie osservazioni sugli Anfibi 1912 a, e che negli stessi Mammiferi altri elementi del ciclo germinale, quali gli oogoni, hanno condriosomi filamentosi (mie osservazioni inedite).

Non rientra nel piano della presente memoria lo studio dei condriosomi in periodi più inoltrati dello sviluppo; ricorderò soltanto, che finchè le cellule non acquistano un' impronta citologica specifica, cioè finchè esse non si differenziano, il condrioma non si modifica affatto.

Figura G.



Parete dell' otociste di un embrione di *Vespertilio mur.* di 4 mm di lungh. — Ingr. 1800 ×.

Negli embrioni più inoltrati, come nei precoci, troviamo che l'orientazione dei condrioconti è in correlazione colla forma della cellula; nelle

cellule a forma cilindrica, a qualsiasi organo esse appartengano, i condrioconti sono orientati in maggioranza paralellamente all' asse cellulare e, come di solito, assumono un andamento più irregolare nelle parti di citoplasma sovrastanti e sottostanti al nucleo. Riproduco quale esempio un tratto della parete dell' otociste di un embrione di *Vespertilio murinus* di 4 mm di lunghezza, ove la suaccennata disposizione dei condrioconti appare con sufficiente evidenza (fig. G).

VII. Riassunto.

1°. I condriosomi dell' uovo e dell' embrione sono organuli cellulari morfologicamente ben definiti; il fatto che essi vanno incontro a trasformazioni graduali di forma è da per sè solo in contrasto colla supposizione che rappresentino una struttura del protoplasma nel senso di Flemming.

2°. La persistenza dei condriosomi in un numero grandissimo di stadi successivi, tanto nelle cellule in riposo che in quelle in mitosi, ed anche l'analogia nel comportamento dei granuli e rispettivamente dei filamenti, che abbiamo trovato nei vari stadi dello sviluppo, di fronte alle sostanze coloranti, dimostrano in modo indiscutibile la continuità dei condriosomi dell' uovo ovarico in quelli dei blastomeri e delle cellule dell' embrione; continuità che le ricerche antecedenti avevano illustrato soltanto imperfettamente.

3°. Dopo la fecondazione i mitocondri, i quali durante il periodo di accrescimento e di maturazione dell' uovo erano addensati in una stretta zona marginale, si sparpagliano per tutto il citoplasma dell' uovo ed acquistano presto una distribuzione uniforme, frammischiandosi alle sfere di deutoplasma. Contemporaneamente i vacuoli spariscono ed anche il deutoplasma diminuisce.

4°. Durante le prime segmentazioni i mitocondri si rigonfiano e divengono più radi; allo stadio a 20—30 blastomeri molti mitocondri acquistano a poco a poco una forma allungata trasformandosi a poco a poco in filamenti rigidi ed alla fine della segmentazione un numero sempre maggiore di condriosomi ha assunto la forma di filamenti; questi si allungano e si fanno meno rigidi quanto più la segmentazione progredisce. Escludo nel modo più assoluto che la trasformazione dei mitocondri in condrioconti avvenga per seriazione e successiva fusione di granuli distinti.

5°. Non ho mai riscontrato, nè durante la segmentazione, nè durante la formazione del blastocele delle differenze citologiche fra i vari blastomeri, all' infuori delle ben note diversità di grandezza.

6°. Dopo la formazione del blastocele gran parte del con-

drioma è divenuto filamentoso; i condrioconti si fanno più sottili, più lunghi e sinuosi; la differenziazione dei condriosomi è più inoltrata nelle cellule appiattite dello strato avvolgente che in tutti gli altri elementi della blastociste; ma dopochè l'entoderma s'è esteso a tutta la parete della blastociste, tutte le cellule di questa assumono una struttura pressochè uniforme.

Col progredire della segmentazione il deutoplasma diminuisce, e può scomparire alla fine di questa; però in alcune uova persiste anche dopo la comparsa del blastocele.

7°. Il fatto che la trasformazione dei mitocondri in condrioconti si inizia già durante la segmentazione dell' uovo, basta da per sè solo a dimostrare infondata l'ipotesi di Rubaschkin, che i mitocondri siano un attributo delle cellule indifferenziate e che i condrioconti caratterizzino invece le cellule differenziate; e non è neppure esatta l'affermazione di quell'A., che le cellule della parte caudale dell' embrione abbiano un' impronta differente da quelle della parte craniale per la presenza di mitocondri.

In quanto ai gonociti, è possibile che contengano mitocondri durante una fase transitoria dello sviluppo, ma questo non è certamente un carattere specifico di tali cellule; e tanto meno è specifico per le cellule sessuali dei Mammiferi in genere, come vuole Rubaschkin (1912), visto che gli oogoni sono caratterizzati da condrioconti.

8°. Nelle fasi successive dello sviluppo i condrioconti si fanno sempre più sottili, più lunghi e più radi, e sopratutto la loro orientazione si modifica correlativamente ai cambiamenti di forma della cellula, tendendo in genere a disporsi parallelamente all' asse maggiore. Però essi non acquistano, almeno fin dopo la completa chiusura della doccia midollare, in nessun organo un' impronta specifica; nè la disposizione, nè la forma dei condrioconti di una cellula cilindrica di un somite mesodermico differisce affatto da quella di una cellula dell' epitelio celomatico o della parete del canale midollare.

9°. In singoli casi ho dimostrata la trasmissione dei mitocondri dello spermatozoo ad una sola delle cellule dello stadio a 2 ed anche dello stadio a 3 blastomeri.

VIII. Considerazioni.

A. Sulla forma dei condriosomi. Le ricerche che ho intrapreso da non breve tempo sul condrioma di molti tipi di cellule mi avevano indotto alla supposizione, che la forma del condrioma comune a tutte le cellule dell' organismo a perfetto sviluppo e dell' embrione fosse la filamentosa; io avevo avuto opportunità di convincermi, che molte delle

varietà del condrioma descritte da altri Autori come granulari, in realtà si riconducono, con una tecnica appropriata, alla forma di filamenti di spessore uniforme e lisci, nei quali neppure coi più potenti mezzi ottici si riesce a scoprire una forma granulare.

Io supponevo infine, quando iniziai le ricerche qui riferite, che i granuli e le catene di granuli, i mitocondri ed i condriomiti di Benda, fossero un artefatto dipendente dalla tecnica, che cioè per effetto di fissazioni inadeguate i condrioconti si modificassero artificialmente, acquistando i caratteri di mitocondri. Se io esponessi diffusamente i fatti sui quali si fondava questa mia supposizione, sarei condotto a trattare argomenti estranei a quelli che formano oggetto della presente memoria.

Il fatto che mi sembrava più importante in appoggio di questa mia convinzione era l'osservazione di elementi viventi; perchè, come ho in parte riferito in altre mie pubblicazioni, in molte cellule ghiandolari di *Geotriton*, in cellule luteiniche e follicolari di Mammiferi non sottoposte ad alcun trattamento (1913) ho visti dei filamenti con caratteri morfologici simili a quelli apprezzabili nei preparati fissati. Particolarmente convincenti mi sembrarono le ricerche di Terni (1912), eseguite nel mio istituto, sugli elementi sessuali maschili di *Geotriton*, e quelle mie (1912 b) sugli ociti della stessa specie; negli uni e negli altri la corrispondenza fra le imagini ottenute sul vivente e quelle nei preparati fissati era perfetta. Inoltre in questi stessi elementi, metodi di fissazione inadeguati determinavano una modificazione dei condrioconti in minuti granuli seriati od anche isolati.

Non trascurabile mi sembrò inoltre un' altra considerazione in favore della maggiore attendibilità che offrono le imagini di condrioconti di fronte a quelle dei mitocondri; che se da un lato è verosimile, che delle formazioni filamentose possano artificialmente disgregarsi in granuli, più difficilmente si può imaginare come avvenga il fenomeno inverso, che serie di granuli per effetto della fissazione possano acquistare l'apparenza di condrioconti.

D'altro canto le ricerche recenti di autorevoli citologi confortavano questa mia convinzione; in sempre nuove varietà di cellule si dimostrava, che i bioblasti di Altmann ed i mitocondri ed i condriomiti di Benda non erano in realtà che condrioconti.

Di fronte a queste osservazioni concordanti sulle cellule somatiche, risultava all' incontro dallo studio delle cellule sessuali maschili e femminili, che molte di queste sono caratterizzate da mitocondri. Cosicchè incominciò a prevalere fra alcuni citologi il convincimento, che i condrioconti fossere un attributo delle cellule somatiche, i mitocondri di molte cellule sessuali.

Rubaschkin (1912) partendo da questi dati e da altri da lui rilevati, volle dare una portata generale a queste differenze fra cellule somatiche e sessuali; egli ritenne, come ho esposto a pag. 502—503, che il condrioma granulare fosse un attributo delle cellule indifferenziate (cellule sessuali ed elementi dell' embrione prima della differenziazione), il condrioma filamentoso quello delle cellule differenziate.

Quando iniziai le ricerche che son qui riferite, io ritenevo anzi tutto poco fondata una distinzione su basi citologiche fra questi due gruppi di cellule, ed in secondo luogo supponevo che con una tecnica adeguata sarebbe stato possibile di ricondurre il condrioma ad un' unità morfologica; che cioè i condrioconti, e soltanto questi, fossero un' attributo comune a tutte le cellule somatiche e sessuali.

I fatti hanno dimostrato che queste mie supposizioni erano in buona parte esatte.

Le mie ricerche sui gonociti e sugli oociti degli Urodeli, altre ancora inedite sugli oogoni di Mammiferi e sugli oociti di Uccelli e di Rettili mi hanno data la prova dell' esistenza di condrioconti nelle cellule sessuali di molti animali; per non parlare di altri risultati antecedenti (di Benda [1899], di Duesberg [1910], di Holländer [1902], di Terni [1912] ecc.). Infine dalle osservazioni qui riferite si rileva che nelle uova di Mammiferi a segmentazione inoltrata esistono sicuramente condrioconti e che questi prevalgono sempre più di fronte ai mitocondri quanto più procede la segmentazione.

Tutto ciò dimostra adunque che la distinzione di Rubaschkin (1910) fra cellule differenziate ed indifferenziate, fondata sul criterio della forma dei condriosomi, non è sostenibile.

La parte della mia supposizione che risultò meno fondata, è quella riguardante l'unità morfologica del condrioma. I risultati resi noti di recente, e che riassunsi nell' introduzione, sulla fecondazione e sulla segmentazione delle uova di Echinodermi, Vermi e Tunicati, assieme alle mie osservazioni qui riferite sulla maturazione e sulla segmentazione delle uova di Mammiferi, dimostrano che:

a) le cellule sessuali maschili e femminili nel periodo di accrescimento e di maturazione sono in alcuni casi caratterizzate da mitocondri, in altri da condrioconti; le osservazioni di Perroncito (1910) dimostrerebbero che negli elementi seminali da lui studiati (di *Paludina*) coesistono nella stessa cellula mitocondri e condrioconti.

b) nelle uova fecondate e durante le prime segmentazioni, almeno nei casi finora studiati, furono trovati esclu-

sivamente mitocondri. Resta a dimostrarsi se il fatto ha una portata generale; le figure di Retzius (1910) di uova di *Gobius* in segmentazione ci farebbero supporre che in quella specie, già nei primi blastomeri, come del resto nell' uovo maturo, si trovano condrioconti. Le osservazioni finora eseguite sono infine troppo scarse per permetterci di formulare una legge.

Ad ogni modo bastano i pochi esempi che conosciamo di condrioma granulare in alcune cellule sessuali ed in uova in segmentazione per negare il principio dell' unità morfologica del condrioma.

B. Natura condriosomica degli organuli studiati. I criterî ai quali ci affidiamo per definire la natura condriosomica di determinate formazioni possono essere raggruppati, come giustamente rilevò Terni (1914), come segue: criterio tintoriale, chimico, morfologico e biologico; criteri che hanno un valore puramente empirico, dato lo scarso rigore scientifico che ha il concetto stesso di condrioma.

Nel caso nostro il criterio tintoriale, che io ritengo del resto il meno probativo, resultò positivo: durante tutta l'ontogenesi gli organuli di cui ci siamo occupati, offrirono le identiche affinità per le sostanze coloranti.

In quanto alla loro natura chimica, è fuor di dubbio che tanto i mitocondri dell' uovo, che quelli dell' embrione si alterano per l'azione dell' acido acetico contenuto in molti fissatori, e si conservano soltanto dopo trattamento con tetrossido di osmio o con sali di cromo; ma anche a questo criterio, il quale è fondato sulla supposizione che nella costituzione chimica dei condriosomi entrino delle sostanze di natura lipoidica, io non potrei dare allo stato attuale delle nostre conoscenze che ben scarso valore.

Della loro forma ho detto diffusamente più sopra; è evidente che, dati i profondi cambiamenti di forma a cui sottostanno i condriosomi durante l'ontogenesi, questo criterio non può essere invocato nel caso nostro.

Resta adunque il criterio biologico; ed è questo che qui, come sempre, dà maggiore affidamento; se veramente, come credo di aver dimostrato, i mitocondri delle cellule provenienti dalle prime segmentazioni dell' uovo, si trasformano nei condrioconti delle cellule dell' embrione, è lecito di affermare, che i condriosomi, nonostante sensibilissimi cambiamenti di forma, conservano durante tutta l'ontogenesi la loro individualità. Io son convinto che in questo come in altri casi, ciascun condriosoma deriva da un condriosomo preesistente (Meves [1908], Duesberg [1910], Romeis [1913]).

E poichè la teoria dei condriosomi è fondata sopratutto sulla trasmis-

sione loro attraverso alle varie generazioni cellulari e sulla loro persistenza durante la mitosi, noi abbiamo ragione di affermare pienamente giustificata la definizione di condriosomi per gli organuli apprezzabili durante l'ontogenesi dei Mammiferi.

C. Il numero dei condriosomi nelle cellule durante l'ontogenesi. La questione è evidentemente ardua, sopratutto per ragioni tecniche. Le colorazioni di cui ci serviamo per mettere in evidenza i condriosomi sono tutte estrattive, dimodochè non si ha mai la sicurezza che tutti i condriosomi, specialmente in determinati stadî, nei quali la loro affinità per le sostanze coloranti è minore, trattengano a sufficienza il colore.

Naturalmente questi confronti furono da me eseguiti col massimo scrupolo; furono fra loro paragonate sezioni di eguale spessore, colorite con eguale intensità e sopratutto ho tenuto conto esclusivamente di differenze quantitative rilevanti.

Dopo la fecondazione avviene forse un aumento dei mitocondri, ma se mai esso è assai lieve; è doveroso aggiungere che a questa fase il deutoplasma diminuisce e si potrebbe forse supporre con Romeis (1913), che il materiale che è ceduto dal deutoplasma in disgregazione sia adoperato per l'accrescimento dei condriosomi. Ma questa supposizione, poco verosimile per ragioni teoriche, non è ad ogni modo suscettibile di dimostrazione.

Vediamo di renderci conto di quello che avviene durante la segmentazione. È noto che la segmentazione dell' uovo si discosta, nei riguardi del rapporto fra massa protoplasmatica e nucleare, dalle ordinarie divisioni cellulari; rapporti che furono particolarmente messi in rilievo da R. Hertwig (1903). Nell' intercinesi il nucleo di ciascun blastomero riacquista un volume poco inferiore a quello della cellula madre, ma non il citoplasma, che rimane circa della metà più piccolo; e così, mentre col progredire della segmentazione la massa nucleare complessiva del germe aumenta, la massa citoplasmatica complessiva rimane quasi invariata; e considerando i singoli blastomeri, in ciascuno di essi il volume del nucleo si modifica di poco, la massa citoplasmatica va all' incontro rapidamente decrescendo.

Volendo precisare, nelle prime segmentazioni il volume dei blastomeri non cresce durante l'intercinesi, cosicchè corrisponde alla metà e rispettivamente ad $^1/_3$, $^1/_4$ ecc. del volume dell' uovo insegmentato; anzi nei casi in cui avviene un' eliminazione abbondante di masse protoplasmatiche è anche inferiore alla metà del volume iniziale. Nelle segmentazioni successive (dallo stadio ad 8 in poi) avviene un lievissimo aumento del citoplasma durante l'intercinesi, il quale non riesce direttamente

apprezzabile colla misurazione, date le molte cause di errore. Che esso avvenga, lo induco dal fatto che la quantità complessiva di citoplasma dell' uovo a segmentazione inoltrata è alquanto maggiore che nell' uovo insegmentato, s'intende non tenendo conto della massa nucleare, la quale, com' è ovvio, aumenta progressivamente durante la segmentazione[1]).

La repartizione dei mitocondri avviene in maniera del tutto diversa durante la segmentazione dell' uovo da quanto s'osserva di solito nella divisione cellulare; i singoli mitocondri non si dividono, come fu osservato in varie cellule sessuali (Giglio-Tos e Granata [1908], Duesberg [1910b], Terni [1911]) e somatiche (Levi [1913]) ma vengono distribuiti in misura eguale nei vari blastomeri; perciò ciascun blastomero contiene approssimativamente un numero di mitocondri, che è la metà e rispettivamente $^1/_3$, $^1/_4$ ecc. di quello dell' uovo insegmentato.

Non facilmente spiegabile è il progressivo diradarsi nel citoplasma dei mitocondri rilevato durante la segmentazione (vedi fig. 5—10 e 21—24); e quest' è tanto pronunziato, che non mi pare basti a rendercene ragione il lievissimo aumento della massa complessiva di protoplasma che interviene a segmentazione inoltrata. Forse vi contribuisce l'eliminazione di una parte non irrilevante del materiale mitocondriale, contenuto nelle masse protoplasmatiche, le quali vengono emesse dall' uovo e dai blastomeri e si raccolgono nello spazio perivitellino; si tratta di quel fenomeno che van der Stricht (1909) ha definito erroneamente come deutoplasmolisi (vedi pag. 483 e seg.). Il diradarsi dei mitocondri sarebbe anche più appariscente, se il loro volume contemporaneamente non aumentasse, diventando relativamente assai notevole allo stadio a 20—30 blastomeri.

In breve, io credo che alla fine della segmentazione il numero complessivo dei condriosomi dell' uovo sia approssimativamente eguale, ed ad ogni modo non certo superiore a quello che abbiamo riscontrato all' inizio del processo; un confronto superficiale fra le figure potrebbe far credere il contrario; ma è opportuno tener presente, che l'aspetto filiforme assunto dai condriosomi fa sì, che lo spazio che essi occupano in ciascuna sezione ottica delle cellule è maggiore, e si ha l'illusione di un aumento del condrioma.

Io son convinto adunque che alla fine della segmentazione ciascuna cellula del germe contenga condriosomi di forma diversa ed in numero di gran lunga inferiore che nell' uovo; e più esattamente il numero dei condriosomi contenuti in ciascuna cellula alla fine della seg-

---

[1]) L'interessante problema della grandezza dei blastomeri e dei rapporti nucleoplasmatici nei medesimi fu oggetto di una speciale ricerca che verrà pubblicata fra breve.

mentazione è una frazione del numero iniziale dei condriosomi dell' uovo insegmentato, la quale ha per denominatore un numero corrispondente al numero di cellule nelle quali l'uovo si è suddiviso.

Dopo la formazione del blastocele si ristabiliscono in tutte le cellule del germe i rapporti ordinari nei riguardi del loro volume; esse obbediscono da allora in poi alla legge della grandezza cellulare fissa, prescindendo dagli incrementi che ulteriormente si stabiliscono in rapporto a particolari differenziazioni; qui, come sempre, il volume di ciascuma cellula figlia è la metà di quello della cellula madre, ma durante l'intercinesi ciascuna cellula riacquista il volume eguale a quello della cellula madre. E da questa fase dello sviluppo in poi la repartizione dei condrioconti durante la cinesi segue le leggi consuete; sebbene io non abbia osservato »de visu« che nelle cellule della blastocisti avvenga una divisione trasversale dei condrioconti (la condrocinesi è un processo che può essere sorpreso soltanto quando il materiale è particolarmente favorevole), induco l'esistenza di una divisione dal fatto, che ciascuna cellula figlia contiene un numero di condrioconti approssimativamente eguale a quello della cellula madre. Da questo momento il numero complessivo dei condriosomi del germe, che fino allora era rimasto invariato, aumenta progressivamente e si mantiene proporzionale all' aumento totale dell' embrione fino al termine dell' accrescimento. Nello stesso tempo la lunghezza dei condrioconti cresce sempre più.

Concludendo, quando alla regola della progressiva diminuzione della grandezza delle cellule, che è accompagnata da una graduale diminuzione nel numero dei condriosomi, si sostituisce la legge della fissità nella grandezza delle cellule e della correlazione nucleo-plasmatica normale, il numero dei condriosomi incomincia a divenire con una certa approssimazione fisso per ciascuna cellula e per di più le cellule acquistano un' impronta citologica diversa, che è dovuta alla differente forma dei condriosomi.

Pur restando adunque stabilito, che durante un lungo periodo dello sviluppo embrionario l'individualità deì condriosomi si conserva, è certo che durante la segmentazione la loro repartizione avviene secondo leggi del tutto diverse da quelle che regolano la repartizione dei cromosomi.

È difficile di definire quello che avviene nei riguardi del numero dei condrioconti durante il periodo organogenetico; se essi crescano soltanto in lunghezza, oppure se avvenga una fusione di filamenti dapprima distinti. Ho insistito sulla lunghezza notevole che acquistano nelle cellule cilindriche, nelle quali si orientano paralellamente al maggiore asse.

Del resto i casi nei quali si potè determinare una costanza di numero dei condriosomi sono oltremodo scarsi; condizioni eccezionalmente favorevoli permisero a Terni (1914) di stabilire con molta approssimazione, che negli elementi seminali di *Geotriton* tale costanza di numero sussiste. In periodi inoltrati dello sviluppo parecchi fattori si oppongono alla dimostrazione dell' individualità dei condrioconti.

Osservazioni che non ho qui riferito sulla differenziazione funzionale delle cellule. mi hanno convinto, che in molti elementi ghiandolari (cellule gastriche ed intestinali di Anfibi, cellule epatiche dei Mammiferi) all' atto della differenziazione, cioè in periodi assai inoltrati dello sviluppo embrionario, il numero dei condrioconti aumenta molto: un fatto che mi sembra di non lieve valore contro l'ipotesi di Meves della trasformazione dei condrioconti in prodotti della differenziazione cellulare[1]) e che è pure in disaccordo colle osservazioni di Romeis (1913) sugli embrioni di *Ascaris*; quest' Autore riscontrò nelle prime fasi dello sviluppo un aumento dei condriosomi ed una diminuzione progressiva in fasi successive; quest' ultima si spiegherebbe, secondo Romeis, in parte con ragioni estrinseche, in parte con una trasformazione di condrioconti nelle fibrille dell' ectoderma e dell' entoderma.

Romeis esprime la convinzione, che lo stadio indifferente del condrioma si conserva soltanto nelle prime fasi dello sviluppo e che esso si modifica non appena la cellula si trasforma in una determinata direzione. Le mie ricerche nei Mammiferi hanno invece dimostrato l'opposto; durante la formazione dei foglietti i condriosomi hanno caratteri quasi uniformi, tanto che non sussistono differenze fra la regione embrionaria del germe e quella extraembrionaria; e neppure i fatti osservati durante periodo organogenetico si accordano coi reperti di Romeis.

D. Destino dei condriosomi maschili. Su quest' argomento debbo mantenermi molto riservato, perchè i dati che posso riferire sono scarsi. Dai reperti di van der Stricht (1909), Lams (1913) e miei si rileva che in singoli casi i condriosomi maschili, i quali formano una guaina al pezzo intermedio dello spermatozoo, possono essere trasmessi ad uno solo dei blastomeri dell' uovo dei Mammiferi; e la mia osservazione sovra un uovo a tre blastomeri (vedi pag. 488) dimostra che il pezzo intermedio

---

[1]) Rammento a questo proposito che quella parte delle mie ricerche 1911 tendente a dimostrare insussistente l'ipotesi della trasformazione dei mitocondri in neurofibrille fu confermata recentemente da Cowdry (1914), il quale però sembra non conoscere la mia pubblicazione.

può persistere integro anche in una delle cellule provenienti dalla 2ª segmentazione dell' uovo.

Si tratta dello stesso fatto scoperto da Meves in *Paraechinus* (1912) (anzi l'osservazione di van der Stricht (1909) è anteriore a quella di Meves); ma mentre il fatto è tipico in questa specie, van der Stricht dubita della sua costanza in *Vespertilio murinus*; ed io non posso nè affermarlo nè negarlo, perchè io pure l'ho ritrovato soltanto in pochi casi. Non posso negarlo, perchè dopo tutto non è inverosimile, che il pezzo intermedio dello spermatozoo sia visibile nel citoplasma dei blastomeri soltanto in condizioni particolarmente favorevoli di fissazione e di colorazione.

In quanto al significato di questa persistenza, van der Stricht respinge l'ipotesi che si tratti di uno spermatozoo supplementare penetrato nel vitello al momento della segmentazione, perchè in *Vespertilio mur.* non si ha mai polispermia. Henneguy nella discussione sollevata al congresso di Bruxelles (1910) sulla comunicazione di Lams, formulò la supposizione, che il blastomero contenente la coda dello spermatozoo si trasformi nella porzione embrionaria del germe, l'altro blastomero nel trofoblasto.

L'interpretazione di Meves per le uova di *Sphaerechinus* non è molto diversa; la parte del Pluteus destinata a regredire deriverebbe dal blastomero senza condriosomi maschili, l'abbozzo del giovane *Echino* dall' altro blastomero.

Le ipotesi di Henneguy e di Meves non furono finora suffragate da alcun fatto, ed il solo argomento nuovo che io adduco, la possibilità della persistenza del pezzo intermedio dello spermatozoo in uno dei blastomeri provenienti dalla 2ª segmentazione, non contribuisce ancora ad illustrare il significato del condrioma maschile nello sviluppo ulteriore.

Indicazioni bibliografiche.

1. Anikiew (1908), Über den Bau des Eiprotoplasmas und über die exzentrische Lagerung der Kernfiguren in einigen Tubeneiern der Hausmaus (Mus musc., varietas alba). Anat. Anz. Bd. 32.
2. Benda, C. (1901), Die Mitochondriafärbung und andere Methoden zur Untersuchung der Zellsubstanzen. Verh. der anat. Ges. Bonn.
3. —— (1903), Die Mitochondria. Ergebn. der Anat. und Entwicklungsgesch. Bd. 12.
4. Cattaneo, D. (1914), Ricerche sulla struttura dell' ovario dei Mammiferi. Arch. di Anat. e di Embr. Vol. 12.
5. Champy, C. (1911), Récherches sur l'absorption intestinale et le rôle des mitochondries dans l'absorption et la sécretion. Arch. d'Anat. micr. T. 13.
6. Cowdry, E. W. (1914), The development of the cytoplasmic constituents of the nerve cells of the chik. 1. Mitochondria and neurofibrils. Amer. Journ. of Anat. Vol. 15.
7. Duesberg, C. (1910 a), Sur la continuité des éléments mitochondriaux des cellules sexuelles et des chondriosomes des cellules embryonnaires. Anat. Anz. Bd. 35.
8. —— (1910 b), Nouvelles récherches sur l'appareil mitochondrial des cellules séminales. Arch. f. Zellforschung. Bd. 6.
9. —— (1913), Plastosomen, »apparato reticolare interno« und Chromidialapparat. Erg. der Anat. und Entwicklungsgesch. Bd. 20, H. 2.
10. Duval, M. (1899), Études sur l'embryologie des Cheiroptères. 1. P. L'ovule, la gastrula, le blastoderme et l'origine des annexes chez le murin. Paris, Felix Alcan.
11. Ebner (1902), Köllikers Handbuch der Gewebelehre des Menschen. Bd. 3, 6. Auflage.
12. Flemming (1882), Zellsubstanz, Kern und Zellteilung.
13. —— (1899), Zur Kenntnis des Ovarialeies. Festschrift zum 70. Geburtstag von Karl von Kupfer.
14. Held, H. (1912), Über den Vorgang der Befruchtung bei Ascaris megalocephala. Verh. der anat. Ges. an der 26. Vers. in München.
15. Hertwig, R. (1903), Über Korrelation von Zell- und Kern-Größe und ihre Beziehung für die geschlechtliche Differenzierung. Biologisches Centralblatt Bd. 23.
16. Kull, H. (1913), Eine Modifikation der Altmannschen Methode zum Färben der Chondriosomen. Anat. Anz. Bd. 45.
17. Lams, H. (1913), Étude sur l'œuf de Cobaye aux premiers stades de l'embryogenèse. Arch. de Biol. Vol. 28.
18. Lams, H. e Doorme, J. (1908), Nouvelles récherches sur la maturation et la fécondation de l'œuf des Mammifères. Arch. de Biol. T. 23.
19. Levi, G. (1911), Sulla presunta partecipazione dei condriosomi alla differenziazione cellulare. Arch. Ital. di Anat. e di Embr. Vol. 10.
20. —— (1912 a), I condriosomi dei gonociti. Monit. zool. Anno 23.
21. —— (1912 b), I condriosomi nell' oocite degli Anfibi. Ibid.
22. —— (1912 c), I condriosomi nelle cellule secernenti. Anat. Anz. Bd. 42.

23. Levi, G. (1913), Note citologiche sulle cellule somatiche dell' ovaio. Arch. f. Zellforschung. Bd. 11.
24. Luna, E., Lo sviluppo dei plastosomi negli Anfibi. Ibid.
25. Meves, F. (1908), Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Cytologische Studien am Hühnerembryo. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 72.
26. —— (1910), Zur Einigung zwischen Faden- und Granulalehre des Protoplasmas. Beobachtungen an weißen Blutzellen. Ibid. Bd. 75.
27. —— (1911), Über die Beteiligung der Plastochondrien an der Befruchtung des Eies von Ascaris megalocephala. Ibid. Bd. 76.
28. —— (1912), Verfolgung des sogenannten Mittelstückes des Echinidenspermiums im befruchteten Ei bis zum Ende der ersten Furchungsteilung. Ibid. Bd. 80. Abt. 2.
29. —— (1913), Über das Verhalten des plastosomatischen Bestandteiles des Spermiums bei der Befruchtung des Eies von Phallusia mamillata. Ibid. Bd. 82. Abt. 2.
30. —— (1914), Die Plastochondrien in dem sich teilenden Ei von Ascaris megalocephala. Ibid. Bd. 84. Abt. 2.
31. Perroncito, A. (1909), Contributo allo studio della biologia cellulare. Il fenomeno della dittocinesi. Atti Società ital. di Patologia, 6. Riun. Modena.
32. —— (1910), Contributo allo studio della biologia cellulare. Mitocondri, cromidii ed apparato reticolare interno nelle cellule spermatiche. Rend. Acc. dei Lincei, Anno 307 (Cl. Sc. fis. e mat. Vol. 8).
33. Retzius, G. (1906), Die Spermien der Vespertilionen. Biol. Untersuch. Neue Folge. Bd. 13.
34. —— (1910), Über den Bau des Eies der Echinodermen im unbefruchteten und befruchteten Zustand. Biol. Unters. Neue Folge. Bd. 15.
35. —— (1911), Untersuch. an Eiern von verschiedenen Wirbeltieren und Wirbellosen. Ibid. Bd. 16.
36. —— (1914), Was sind die Plastosomen? Arch. f. mikr. Anat. Bd. 84, Abt. 1.
37. Romeis, B. (1913), Beobachtungen über die Plastosomen von Ascaris megalocephala während der Embryonalentwicklung unter besonderer Berücksichtigung ihres Verhaltens in den Stamm- und Urgeschlechtszellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 81, Abt. 2.
38. Rubaschkin, W. (1910), Chondriosomen und Differenzierungsprozesse bei Säugetierembryonen. Anat. Hefte. Bd. 41.
39. —— (1912), Zur Lehre von der Keimbahn bei Säugetieren. Über die Entwicklung der Keimdrüsen. Anat. Hefte. Bd. 46.
40. Russo, A. (1907), Sull'origine dei mitocondri e sulla formazione del deutoplasma nell'oocite di alcuni Mammiferi. Boll. R. Accad. dei Lincei.
41. —— (1908), Sull' origine e sulla funzione dell' apparato mitocondriale nelle cellule sessuali dei Mammiferi. Boll. Accad. Gioenia Catania, F. 2. S. 7.
42. —— (1909), I mitocondri ed i globuli vitellini nell' oocite di coniglia allo stato normale ed in condizioni sperimentali. Ibid. S. 5. Vol. II.
43. —— (1910), Sui mutamenti che subiscono i mitocondri ed i materiali deutoplasmatici dell' oocite di coniglia in diversi periodi di inanizione. Arch. f. Zellforschung. Bd. 5.
44. —— (1911), Sul diverso tipo di metabolismo delle uova embrionate di coniglia. Bollett. Accad. Gioenia Catania. F. 15, S. 2.

45. Russo, A. (1912), Aumento dei granuli protoplasmatici nelle coniglie iniettate con lecitina ecc. Arch. f. Zellforsch. Bd. 8.
46. Schaxel, J. (1912), Versuch einer cytologischen Analysis der Entwicklungsvorgänge. 1. T. Die Geschlechtszellenbildung und die normale Entwicklung von Aricia foetida Clap. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. und Ontog. Bd. 34.
47. Sobotta, J. e Burckhard, G. (1910), Reifung und Befruchtung des Eies der weißen Ratte. Anat. Hefte Bd. 42.
48. Tafani, A. (1889), I primi momenti dello sviluppo dei Mammiferi. Pubbl. del. R. Istituto di Studi Sup. Firenze.
49. Terni, T. (1911), Sul comportamento dei condriosomi durante le divisioni di maturazione. Arch. Ital. di Anat. e di Embr. Vol. 11.
50. —— (1912), Dimostrazione di condrioconti nel vivente. Anat. Anz. Bd. 41.
51. —— (1914), Condriosomi, idiozoma e formazioni periidiozomiche nella spermatogenesi degli Anfibi. (Ricerche sul Geotriton fuscus.) Arch. f. Zellforschung. Bd. 12.
52. van Beneden, Ed. (1883), Récherches sur la maturation de l'œuf, la fécondation et la segmentation de l'œuf chez les Cheiroptères. Arch. de Biol. T. 1.
53. —— (1899), Récherches sur les premiers stades du développement du murin (Vespertilio murinus). Anat. Anz. Bd. 16.
54. —— (1911), Récherches sur l'émbryologie des Mammifères. 1. De la segmentation, de la formation de la cavité blastodermique et de l'embryon didermique chez le murin. (Pubblicato da Brachet.) Arch. de Biol. T. 26.
55. —— (1912), Récherches sur l'émbryologie des Mammifères. 2. De la ligne primitive, du prolongement céphalique de la notochorde et du mésoblaste chez le lapin et chez le murin (pubblicato da Brachet). Ibid. T. 27.
56. van der Stricht, O. (1899), La fixation de l'œuf de chauve-souris dans l'intérieur de l'uterus. Verh. der anatom. Ges. auf der 13. Vers. in Tübingen.
57. —— (1909), La structure de l'œuf des Mammifères (Vesperugo noctula). 3. partie. L'oocyte à la fin du stade d'accroissement, au stade de la maturation, au stade de la fécondation et au début de la segmentation. Mém. de l'Acad. Royale du Belgique, Bruxelles, Hayer.
58. van der Stricht, René (1911). Vitellogénèse dans l'ovule de la chatte. Arch. de Biol. T. 26.
59. Vejdovsky (1911—12), Zum Problem der Vererbungsträger. Prag. Verhandl. d. k. böhm. Ges. der Wissensch.
60. Waldeyer (1906), Die Geschlechtszellen. Handb. der vergl. und exper. Entwicklungsgesch., herausgegeben von O. Hertwig. Bd. 1.
61. Zoja, L. ed R. (1891), Intorno ai plastiduli fucsinofili (bioblasti dell' Altmann). Mem. Ist. Lomb. Scienze e Lett. Milano. Vol. 16.

Spiegazione delle tavole XXXI—XXXIV.

Le figure 1—20 furono disegnate da preparati fissati in liquido di Maximow modificato e coloriti coll' ematossilina ferrica, previa ossidazione delle sezioni; le figure 21 e 24 riproducono preparati fissati colla miscela Champy e coloriti col metodo Altmann-Kull; le figure 22, 23 e 25—30 furono disegnate da preparati fissati colla miscela Maximow modificata e coloriti col metodo Altmann-Kull, sempre previa ossidazione delle sezioni. I preparati furono riprodotti sempre coll' apparecchio da disegno Abbe e l'ingrandimento fu esattamente calcolato all' altezza del tavolo da disegno; Apocromat. Zeiss 2 mm., Apert. 1,40, Oculari 6,12 (soltanto la fig. 7a fu riprodotta coll' Ocul. 18, la fig. 27 coll' Apocromat. 4 mm. ed Oculare 12).

Tavola XXXI.

Fig. 1. Oocite contenuto in un follicolo a due piani di cellule di un ovario di Vespertilio murinus. Ingr. 800 ×

Fig. 2. Oocite contenuto in un follicolo pluristratificato senza antro di un ovario di *Vespertilio mur.* Nucleo eccentrico, condriosomi periferici, nel centro vacuoli; corpo vitellino presso il nucleo. Ingr. 800×.

Fig. 3. Oocite contenuto in un follicolo vescicoloso con cumulo proligero di un ovario di *Vespertilio mur.*; nucleo eccentrico, mitocondri addensati in un sottile alone periferico; la più gran parte dell' uovo contiene piccoli vacuoli e grosse sfere adipose. Ingr. 800×.

Fig. 4. Oocite in un follicolo atresico di un ovajo di *Cavia cobaja* con fuso di maturazione. Ingr. 1200×.

Fig. 5. Sezione del polo vegetativo parallela all' equatore di un uovo tubarico di *Vespertilio mur.* alla fase del 2° fuso di maturazione; mitocondri addensati alla periferia; grosse sfere adipose e piccolissimi vacuoli nel rimanente dell' uovo. Ingr. 1800×.

Fig. 6. Uovo tubarico di *Vespertilio mur.* A alla fase di due pronuclei. Ingr. 800×.

Fig. 7. Uovo tubarico di *Vespertilio murinus* V segmentato in 2 blastomeri; il blastomero di destra contiene il pezzo intermedio dello spermatozoo. Ingr. 800×.

Fig. 7a. Porzione perinucleare del blastomero contenente il pezzo intermedio dello spermatozoo *s* in sezione trasversa dell' uovo tubarico V riprodotto nella figura precedente. Ingr. 3000× circa.

Fig. 8. Uovo tubarico a 3 blastomeri di *Vespertilio mur.* G; due piccole masse protoplasmatiche nello spazio perivitellino, in uno dei blastomeri si distingue il pezzo ntermedio dello spermatozoo. Ingr. 1800×.

Tavola XXXII.

Fig. 9. Uovo uterino a 25 blastomeri circa (sezione di un polo dell' uovo) di *Vespertilio Blasii* E. Accanto ai grossi mitocondri si distinguono brevi e sottili condrioconti. Ingr. 1300×.

Fig. 10. Una metà di un uovo uterino F a circa 80 blastomeri. Ingr. 1800×.

Fig. 11. Blastociste A di *Vespertilio Blasii* (non ancora fissata alla parete uterina). Ingr. 800×.

Fig. 12. Sezione tangenziale del polo embrionario della parete della blastociste di *Vesp. Blasii* A, *ec.* ectoderma embrionario, *ent.* entoderma. Ingr. 1800×.

Fig. 13. Porzione extraembrionaria della parete di una blastociste di *Vespertilio mur.* [A] fissata alla parete; *ec.* ectoderma, *ent.* entoderma. Ingr. 1800×.

Fig. 14. Da una blastociste di *Miniopterus* B al limite fra area embrionaria ed extraembrionaria; la blastociste è già fissata alla parete uterina; non si è ancora formata la cavità amniotica; *ec. p.* ectoderma primitivo, *ec.* ectoderma. Ingr. 800×.

Fig. 15. Da un blastoderma di *Vespertilio mur.* G.; *pl. m.* placca midollare, *m.* mesoderma, *pl. c.* placca cordale, *ent.* entoderma. Ingr. 800 ×.

Fig. 16. Strato superficiale della placca midollore del blastoderma riprodotto nella fig. 16. Ingr. 1800×.

Tavola XXXIII.

Fig. 17. Metà della parete della doccia midollare di un embrione di *Vespertilio mur.* F. (dalla porzione caudale dell' embrione). *c. d. m.* cavità della doccia midollare, *e. c.* ectoderma, *cr. g.* cresta gangliare. Ingr. 800×.

Fig. 18. Dalla parete della doccia midollare dell' embrione riprodotto nella figura precedente. *c. d. m.* cavità doccia midollare, *e. c.* ectoderma. Ingr. 1800×.

Fig. 19. Parete di un somite dell' embrione riprodotto nelle due figure precedenti. Ingr. 1800×.

Fig. 20. Parte dorsale del canal midollare di un embrione di *Vespertilio mur.* (E). Ingr. 800×.

Fig. 21. Uovo uterino di *Rhinolophus euriale* E ad 11 blastomeri; due grosse masse protoplasmatiche nello spazio perivitellino prive di mitocondri. Ingr. 1000×.

Fig. 22. Uovo uterino a 14 blastomeri di *Rhinolophus* (D). Ingr. 800×.

Fig. 23. Un micromero dell' uovo riprodotto nella figura precedente. Ingr. 1800×.

Fig. 24. Uovo uterino di *Rhinolophus* H a circa 100 blastomeri; la membrana pellucida non è conservata. Ingr. 1800×.

Fig. 25. Sezione tangenziale di una blastula di *Rhinolophus eur. α.* Ingr. 800×.

Tavola XXXIV.

Fig. 26. Bottone embrionario della stessa blastula di *Rhinolophus* riprodotta nella figura precedente; lunghi condrioconti nelle due cellule in mitosi dello strato avvolgente. Ingr. 1800×.

Fig. 27. Blastociste di *Rinolophus eur. β.* Ingr. 600×.

Fig. 28. Metà del bottone embrionario della blastociste di *Rhinolophus* riprodotta nella fig. precedente coll' epitelio uterino *ep. u.* in contatto colla pellucida, *p.* ... *ent.*, entoderma, *str. avv.* strato avvolgente (ectoderma primitivo), *ec.* ectoderma definitivo.

Fig. 29. Cellula dello strato avvolgente al polo inferiore della blastociste come sopra in mitosi, in sezione paralella alla superficie. Ingr. 1800×.

Fig. 30. Blastociste di *Rhinolophus eur.* fissata alla parete uterina. *c. a.* cavità amniotica, *ec.* ectoderma difinitivo, *ent.* entoderma, *ec. pl.* ectoderma placentare (plasmodiblasto), *cbl.* citoblasto.

Beitrag zur Kenntnis der Centrosomenbildung bei Thysanozoon Brocchii.

Von

Dr. **Kaltenbach.**

Mit 6 Textfiguren.

Die Entstehung des Teilungszentrums im Kern ist bei Metazoen im Gegensatz zu den Protozoen bisher nur selten beobachtet worden; auch ist der Vorgang in den wenigen bisher bekannt gewordenen Fällen bei Metazoen durchaus nicht so gleichmäßig wie bei den Protozoen.

So tritt nach Brauer im Kern der jungen Spermatocyten von *Ascaris megalocephala univalens* ein kleines kugelförmiges Gebilde auf, aus dem durch Zweiteilung die Centriole hervorgehen; dasselbe beobachtete Markus bei *Ascaris canis*. Bei *Gordius montenegrinus* entstehen die Centralkörperchen dagegen gleichzeitig an den beiden Enden des »großen Nukleolus«, aus dem sich auch die Zentralspindel bildet; der »große Nukleolus« stellt nämlich die kugelförmig zusammengeballten Tetraden dar; der kleine Nukleolus geht vor der Ausbildung der Spindel zu Grunde.

Vor 13 Jahren entdeckte nun R. Schokaert im Kern der Ovocyten von *Thysanozoon Brocchii*, einem marinen Polycladen, ein neues stäbchenförmiges Gebilde mit zugespitzten Enden, das sich nach Zweiteilung und Durchtritt durch die Kernmembran zum Centrosom abrunden soll.

Die Herkunft des Organes konnte er nicht feststellen.

Zwei Möglichkeiten bestehen. Entweder wird es aus den Ovogonien übertragen, indem es am Ende der Teilung in den Kern einbezogen wird, oder es bildet sich neu aus dunklen halbmondförmigen Bändern am

Rande des Nukleolus. Ersteres wurde nie beobachtet[1]); gegen letzteres schien SCHOKAERT die gleichzeitige Existenz eines »filament lisse« und ein, zwei oder sogar drei Nukleoluskappen zu sprechen. Trotzdem hält er die zweite Entstehungsmöglichkeit für die wahrscheinlichere.

Das zweite filament lisse entsteht nach SCHOKAERT aus dem ersten durch Abschnürung. Die Einschnürung kann seiner Meinung nach nicht durch Abschneiden eines Stücks des filament lisse entstanden sein, da sie

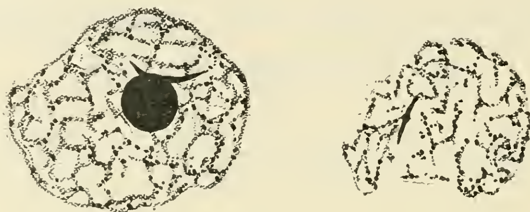


Fig. 1.

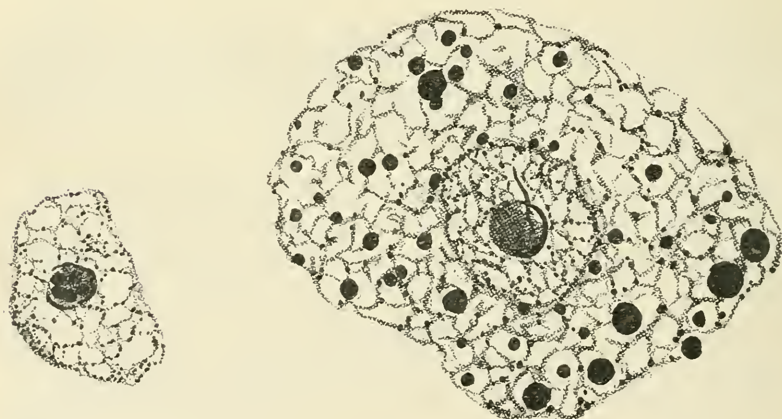


Fig. 2. Fig. 3.

unter der Schnittebene liegt. Er sagt aber selbst: »Nous devons pourtant reconnaître, que nous n'avons observé cette division que dans des ovocytes où le protoplasme renferme déjà des boules vitellines, et non pas dans des ovocytes qui ne possèdent encore que des granules chromatophiles, et qui néanmoins présentent assez souvent déjà deux filaments lisses dans le

1) Es spricht auch der häufige Nachweis eines Zentriols im Plasma der Bukettstadien dagegen, das die Orientierung der Chromosomen in diesem bedingt, die auch bei *Thysanozoon* sehr deutlich ist (BUCHNER, 1909).

noyau.« Die Teilung würde dann also auf verschiedenen Reifestadien eintreten können.

Die Teilung kann im Kern stattfinden, oder erst nach dem Durchtritt durch die Kernmembran. Ersteres erklärt das Auftreten der Centrosomen an weit auseinander gelegenen Punkten des Kerns, letzteres die Entstehung zweier dicht nebeneinander liegender Centrosomen.

Ich habe die in der Literatur so vereinzelt dastehenden Angaben SCHOKAERTS nachgeprüft und kann sie in der Hauptsache bestätigen.

Das »filament lisse« färbt (Fig. 1) sich nur mit HEIDENHAINschem Hämatoxylin. Mit Delafield, Safranin, Hämalaun, Triacid, Jodgrün konnte ich keine distinkten Färbungen erzielen.

Dagegen fand ich Bilder, die seine Abstammung vom primären Nukleolus der Ovocyten höchst wahrscheinlich machen (Fig. 2, 3).



Fig. 4.

Das gleichzeitige Vorkommen von Nukleolenkappen scheint mir nicht gegen diesen Ursprung zu sprechen, da sie sich in ihrem Aussehen, Form und Färbungsintensität, ziemlich deutlich von dem »filament lisse« unterscheiden. Während die gewöhnlichen Nukleolenkappen im Nukleolus liegen und sich unscharf von ihm abheben, lösen sich die »filaments lisses« mit ihren Enden vom Nukleolus los und grenzen sich mit ihrer dunklen Farbe scharf vom verblassenden Nukleolus ab (Fig. 2, 3).

Eine Zweiteilung des frei im Kern liegenden »filament lisse«, wie SCHOKAERT sie beschreibt, sah ich nie, ohne ihr Vorkommen damit gänzlich in Abrede stellen zu wollen.

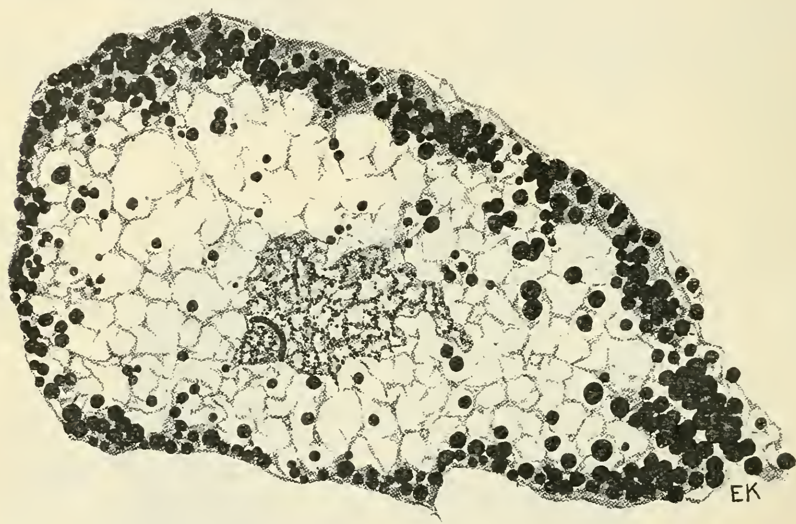


Fig. 5.

Die beiden »filaments lisses« entstehen also meiner Ansicht nach wohl meist gleichzeitig aus dem Nukleolus der Ovocyten.

Im Verlauf der Eireifung rückt das »filament lisse« an den Rand des Kerns und wandelt sich in ein plumpes gebogenes Stäbchen um (Fig. 4, 5), das in seiner Form zu den Anfangsstadien der Centrosomen überleitet, die ursprünglich dieselbe Form haben, wie das austretende »filament lisse« und sich erst später abrunden (Fig. 6).

Sonst fand ich in den diesem entsprechenden oder vielmehr unmittelbar vorangehenden Reifestadien nur ein »filament lisse« der Kernperipherie anliegend. Da nun sicherlich das Centrosom aus dem umgewandelten »filament lisse« entsteht, muß man mit SCHOKAERT annehmen, daß dieses

sich nach seinem Austritt aus dem Kern in die zwei auseinander rückenden Centrosomen teilt.



Fig. 6.

Wenn diese Beobachtungen auch im wesentlichen nur eine Bestätigung von SCHOKAERTS Befunden darstellen, schienen sie mir doch angesichts der Merkwürdigkeit dieser Erscheinung mitteilenswert.

Literaturangabe.

BRAUER, Zur Kenntnis der Spermatogenese bei Ascaris megalocephala. Archiv für mikroskopische Anatomie. Bd. 42.

MARKUS, Ei- und Samenreife bei Ascaris canis. Archiv für mikroskop. Anatomie und Entwicklungsgeschichte. Bd. 68. 1906.

R. SCHOCKAERT, L'ovogénese chez le Thysanozoon Brocchii. La cellule. Bd. 18.

VEJDOVSKY, Zum Problem der Vererbungsträger. Prag 1911/1912.

Su l'origine e la costituzione dei materiali deutoplasmici nell'oocite in accrescimento dei Mammiferi.

Ricerche

del

Dott. **Bruno Monterosso.**

(Istituto di Anatomia e Fisiologia comparate della R. Università di Catania.)

Colle figure a e b nel testo e tavole XXXV—XXXVI.

Introduzione.

Due teorie sono state emesse dagli Istologi moderni per spiegare l'origine dei materiali deutoplasmici che si vedono apparire in un momento determinato dello sviluppo dell' oocite nei mammiferi. Di queste teorie però una ha ottenuto il maggior numero di prove, ed è stata suffragata e svolta in una quantità, ormai rilevante, di lavori. L'altra invece pare che non abbia sufficientemente attirato l'attenzione degli osservatori, dei quali solo alcuni, e che io sappia, mai di proposito, l'han trattata, in modo da opporla completamente alla prima. Secondo i sostenitori di questa il vitello avrebbe origine, per così dire, intraovulare, costituendosi a spese d'una sostanza che si organizza generalmente intorno a un punto centrale costituito dal Corpo di Balbiani. A vero dire, per i seguaci di questo modo di vedere, è oscura l'origine prima di tale sostanza; perché non basta dire che essa apparisca, ma bisogna mettere in luce d'onde provenga, altrimenti il problema della vitellogenesi è spostato, e rimane fatalmente incompiuto. Nessuno più dubita che tale sostanza, ritenuta universalmente di natura mitocondriale, esista negli elementi germinali primitivi, da cui deriva all'ovo; però il modo di sua moltiplicazione non é sufficientemente spiegato, per mancanza di prove specifiche di fatto, dal noto aforisma del Duesberg »Omne mitochondrio e mitochondrio«.

Né le vedute espresse ancora recentemente dal Retzius (1910) specie

per quanto riguarda l'ovo dei Vertebrati sono state abbastanza svolte e provate al cimento della critica, perché vi si possa fondare una sicura teoria. Secondo l'Istologo svedese il vitello nelle ova si formerebbe a spese del paramitoma, mentre i microsomi[1]) non avrebbero in questo processo parte alcuna.

L'altra teoria assegna al deutoplasma un' origine estraovulare, in quanto ammette che esso sia preparato da peculiari cellule, che possiam chiamare sussidiarie, le quali elaborerebbero sostanze particolari che ulteriormente passerebbero, non senza subire speciali mutamenti, nell' ovoplasma. Questa teoria possiamo dire fondata dal Russo, il quale, seguendo un indirizzo fino allora da nessun altro tentato, l'ha potuto suffragare con ricerche sperimentali. Egli però non l'ha messo in relazione con l'altra teoria cennata sopra; nè poteva perché nel suo materiale (coniglia) la formazione endooplasmica (nucleo vitellino) è rappresentata da un semplice corpicciolo, il quale ben presto sparisce, mentre manca in ogni caso l'ammasso mitocondriale primitivo intorno ad esso. Altri pochi autori hanno intravisto nei Mammiferi la possibilità di una vitellogenesi d'origine estraovulare, cioè dovuta alla elaborazione delle cellule follicolari.

Un posto a parte merita la teoria sostenuta dalla scuola dell' Hertwig. della provenienza del materiale (Chromidialapparat) dal nucleo. Essa fino ad ora, almeno per l'argomento che ci occupa, ha ricevuto appena qualche accenno, e del resto si dimostra, come vedremo, insufficiente.

Omero van der Stricht, che è il vero fondatore della teoria dell'origine endoovulare del deutolecite nei Mammiferi, ha dato anche il maggior contributo ad essa. Del resto egli seguì la teoria istituita primamente dal suo maestro E. van Bambeke nel »Pholcus phalangoides«. La sua scuola (Lams, Doorme, d'Hollander) l'ha svolto ulteriormente ed ha avuto seguito numeroso di altri osservatori, tra i quali René van der Stricht. I risultati di tali ricerche hanno messo in evidenza un materiale di natura mitocondriale, che si ammassa in un polo dell' oocite, attorno al nucleo vitellino, costituendo la cosìdetta »couche vitellogène« o »zone palléale«, la quale ulteriormente si disgrega, dando luogo a numerosi granuli (mitocondrî), che ammassandosi in gruppi (»boyaux vitellogènes«) dànno origine, in seguito a speciale trasformazione, ai granuli ed alle gocciole di vitello, di natura lipoidea. Questa scuola però non presta, in

[1]) É noto come il Retzius rigetti la teoria mitocondriale ma non di fatto perché i suoi microsomi sono almeno in parte mitocondrii. Del resto egli fa solo questione di nome: Alle diese neuen Namen sind also ganz überflüssig und verwirren meiner Ansicht nach nur die Darstellungen.

genere, alcuna seria importanza alla elaborazione di materiali da parte delle cellule follicolari per quanto l'ammetta.

Un gran numero di osservatori però ha posto in evidenza una attività secretrice in tali cellule. Basta citare Regaud, Policard, Russo; ma in base a tali fatti una vera teoria vitellogenica non è stata fondata.

Le due principali ipotesi, almeno apparentemente antitetiche, hanno bisogno ancora di un maggior contributo di osservazioni: sopratutto è necessario stabilire se i due processi di deutoplasmagenesi si escludano a vicenda e se coesistano, quali siano i loro rapporti, quale l'importanza di ciascuno in questo complicato e fondamentale fenomeno della vita dell'oocite.

Precedenti ricerche mi incitavano ad annettere al prodotto delle cellule follicolari una notevole importanza; ond'è che continuando lo studio intrapreso da qualque tempo sull' ovaia dei Mammiferi, credo di portare un tenue contributo al rischiaramento di questo problema.

Materiale e Metodi.

Il materiale adoperato per queste ricerche fu fornito da cagne adulte normali, che, appena sacrificate, venivano aperte ventralmente e private delle ovaie. Da queste, dopo una rapidissima ispezione, venivano con un affilato rasoio tolti dei lembi sottilissimi di tessuto corticale che si immergevano subito nei liquidi fissatori. Le miscele usate allo scopo furono diversissime: sublimato con alcool e acido acetico, liquido di Rabl, di Mingazzini, di Tellyesnickzy, di Regaud, Müller, Gilson, Maximow; liquido Ciaccio (secondo tutti e tre i metodi), liquido Hermann, Flemming, Benda. Quanto a questi ultimi, cioè alle miscele osmiche in generale, ho esperimentato che, eccezion fatta per il Maximow, non dànno quei buoni risultati che in altro materiale io stesso ho ottenuto facilmente. Esse fissano bene il nucleo, il nucleolo dell' oocite, nonchè le cellule della granulosa, mentre dissolvono e conservano piuttosto male l'ooplasma. Che sia il materiale che non si presti si può meglio comprendere ove si consideri che mi sono servito di queste miscele tentando composizioni decimali differentissime e tempi d'immersione diversi, senza perciò riuscire a risultati più notevoli. Un metodo che per certi riguardi si può dire buono, fu il seguente: sottilissimi lembi di tessuto corticale dell' ovaia venivano posti nell' interno di un tubo a bocca larga, il quale era introdotto in un vaso ben chiuso, nel cui fondo si metteva una certa quantità di liquido Flemming forte, in modo però che esso non raggiungesse l'imboccatura del tubo contenente i pezzi. Così questi si fissavano con i soli vapori del

liquido, indi rapidamente lavati in acqua, venivano induriti e imparaffinati. L'ovoplasma con tale metodo diventa piuttosto bruno, i granuli di lipoide, neri. È notevole che il numero di questi è sempre maggiore di quello visibile nei preparati ottenuti con il solito metodo d'immersione nella miscela, sicchè tale procedimento poteva essere adoperato come controllo per calcolare la quantità di lipoide esistente nelle cellule ovariche.

Tutti i pezzi, con qualunque metodo, sezionati in paraffina, venivano sottoposti ai più svariati processi di colorazione. Tra questi, preziosi risultati diedero il metodo Ciaccio e quello all' Ematossilina Ferrica di Heidenhain.

Follicolo primordiale.

Il protoplasma dell' oocite nella forma più giovane che si incontra nell' ovaia adulta[1]) è poco colorabile, omogeneo e sfornito di vacuoli. Nel suo interno esiste un grosso nucleo centrale, rotondeggiante, chiaro, con poca sostanza cromatica e un nucleolo grande, di forma sferica, fortemente tinto dalla Ematossilina Ferrica. Presso al nucleolo c'è un corpo anche rotondeggiante molto simile a questo, ma generalmente più piccolo.

Dato il volume rilevante del nucleo, l'ooplasma è ridotto ad una sottile zona che contiene peculiari corpi i quali son messi in evidenza diversamente, a seconda del fissativo adoperato.

Il liquido Ciaccio, con conseguente colorazione al Sudan III, mostra costantemente nell' oocite che attraversa questo stadio, un certo numero di granuli, simili a quelli visti dal Ciaccio in altro materiale (1910), tinti in orange carico dal Sudan, e posti quasi sempre sul prolungamento di una linea che congiunga i due nucleoli (tav. XXXVI fig. 12). La reazione di fronte al liquido Ciaccio ci indica molto probabile l'ipotesi che si tratti di lipoidi, la cui origine bisognerebbe forse cercare nelle ovaie embrionali o d'individui molto giovani. Difatti essi sono costantemente presenti nella forma follicolare or ora descritta, che è la meno avanzata nello sviluppo, riguardo a tutte le altre che si rinvengono nelle ovaie adulte. Essi occupano una posizione caratteristica, perché si trovano nel polo ove si costituisce quella speciale formazione che descriveremo sotto e che rappresenta la fonte principale del deutolecite. Sono generalmente sferici, ma possono essere

---

[1]) Ho voluto seguire l'antica e poco precisa distinzione dei follicoli, dividendoli in primordiali, giovani ecc, perché i fenomeni e le strutture che andrò descrivendo non avvengono rigorosamente in modo determinato rispetto all' evoluzione dell' oocellula, guardata nei suoi organi. Usare quindi le denominazioni più moderne, che si rapportano alle figure cromatiche, avrebbe intralciato, più che facilitato l' esposizione dei fatti osservati.

irregolari e qualche volta a forma di una virgola. Non di rado se ne trova uno solo, il cui volume è quanto gli altri messi insieme. Quando invece sono più numerosi (8—10) allora sono anche più minuti, perfettamente rotondeggianti e molto vicini fra loro.

È interessante notare come in questo momento l'ooplasma, col metodo Ciaccio resti quasi incoloro[1]).

Esso è privo, in tutta la sua estensione, di altri corpi, e, solo eccezionalmente, oltre al gruppetto di granuli lipoidei già accennato, ne presenta altri in punti diversi. Quando ciò avviene, i granuli sono piccoli e per lo più riuniti a gruppi. Il nucleolo ed il nucleo sono sempre sforniti di corpi sudanofili, i quali del resto si trovano in essi solo quando l'oocellula è in processo degenerativo.

Certo, non abbiamo alcun criterio per stabilire la durata di questo stadio; ma deve potere esser la più lunga, in quanto mancano nell' ovaia adulta stadii anteriori, mentre anche in cagne poco avanzate d'età si trovano oociti in questa fase. E ciò salvo che non si ammetta una continua neoformazione, nell' ovaia post-embrionale, di oociti: cosa tutt' altro che accettata dalla grande maggioranza dei moderni istologi!

Gli stadii ulteriori, osservati in sezioni fissate e colorite coi metodi di Ciaccio, mostrano dei fenomeni interessanti: i granuli di grasso gonfiano e si allontanano uno dall' altro, spargendosi per l'ooplasma, che attorno ad essi viene a colorarsi in rosa sempre più carico. In una fase più avanzata (granulosa costituita da grossi elementi quasi cubici) l'ooplasma è pressochè in tutta la sua estensione colorato in rosa tendente al ranciato, mentre i granuli di lipoide descritti sopra vengono a trasformarsi in gocciole trasparenti. Ulteriormente le gocciole scompaiono o se ne trova qualcuna soltanto, forse anch'essa destinata a scomparire: l'ooplasma è rosso arancio.

Gli stessi stadii, osservati in sezioni di pezzi trattati con miscele osmiche, mostrano presso a poco i medesimi caratteri, salvo una quantità maggiore di granuli, tinti in nero, dentro l'ooplasma.

Esaminando invece le ovaie dopo fissazione con liquido Maximow o altri liquidi e colorazione con Ematossilina Ferrica, previa mordenzatura con allume ferrico, è agevole scorgere formazioni del più grande interesse, rappresentate, nello stadio di sviluppo meno avanzato dello oocite, da fili posti generalmente in vicinanza della vescicola germinativa. Tali fila-

[1]) Allo scopo di evitare ogni possibile discioglimento o mascheramento dei lipoidi, ho montato nella gomma-sciroppo di Apàthy le sezioni, dopo averle colorate col Sudan III, escludendo ogni altra tinta.

menti sono nella maggior parte dei casi abbastanza lunghi (fig. 1), e hanno per tutto il loro percorso un diametro sensibilmente uguale. Non sono ramificati e conservano un' andatura più o meno curvilinea: ma ve ne hanno di addirittura retti. Pare che essi circondino il nucleo in tutto o in parte. Il loro numero va crescendo col volume dell' oocite, e quindi col progressivo sviluppo della formazione follicolare. Insomma, invece di uno, due fili allungati e quasi rettilinei, come si presentano nelle ova più piccole, se ne rinviene un fascio. un bouquet, un gomitolo (fig. 2 e 3). Allora essi sono piegati ad ansa e la loro posizione corrisponde perfettamente al gruppo di granuli grassi rilevati nei preparati col metodo Ciaccio. In questo stadio assumono un aspetto a ferro di cavallo, e circondano il nucleo in un polo. Ciò fa si che in certe sezioni l'oocite si presenti con nucleo quasi centrale ai due poli opposti del quale dentro il citoplasma dell' oocite si nota un gomitolo. (Vedere le fig. a e b a pag. 540).

Quanto al vario aspetto di queste curiose formazioni, ho potuto determinare, proseguendone lo studio su molte sezioni in serie, che la loro forma non è sempre la stessa, variando da un oocite all' altro. Ciò dipende anche dal modo come è caduto il taglio. Del resto l'ispezione accurata delle serie di sezioni fa nascere la convinzione che si tratti di alcuni filamenti ad anse, variamente orientati.

Riassumendo, vale la regola che questi filamenti appaiono negli elementi più giovani ove sono sparsi senza posizione determinata, in tutto l'ooplasma. Ma in seguito vanno concentrandosi verso un polo dell'oocite, dove finiscono per ammassarsi. Sembra talvolta che irradiino da un punto che può essere ideale o rappresentato veramente da un corpicciuolo a struttura omogenea, fornito delle stesse proprietà coloranti del nucleolo oocitario. Dico subito che nessun carattere mi fa identificare questo corpuscolo con un vero nucleo di Balbiani. Difatti la sua presenza è addirittura eccezionale, e non presenta mai i centrioli che fino adesso si possono considerare come il carattere più distintivo del nucleo vitellino. Del resto, un vero corpo di Balbiani pare non sia stato visto da von Winiwarter e Sainmont nella Gatta. Da O. van der Stricht fu invece riscontrato (1905) nella Donna, ma solo nel 1° e 2° stadio ed eccezionalmente nel 3° e 4°, ove però l'A. ritiene che possa essere mascherato dallo strato vitellogeno. La maggior parte degli Autori che hanno studiato questa formazione nei Mammiferi, lo riscontrano solo nei primi stadî. Al contrario René van der Stricht (1911) sebbene avesse avuto sott'occhio lo stesso materiale (Gatta), adoperato da O. van der Stricht, lo trova durante tutta l'evoluzione oocitaria.

Quanto alla natura di questi filamenti, le osservazioni microscopiche

non possono avere la pretesa di dare indicazioni assolutamente precise. Il comportamento ulteriore ci mostrerà come essi costituiscano protoplasma secondario, destinato a subire numerose e specifiche trasformazioni, fino a mutarsi in materiale di nutrizione, che sarà adibito dall' oocite stesso. Ma ci mancano veri caratteri di classificazione, e ciò per difetto degli stessi metodi di investigazione, ancor poco perfetti.

Tre criterî bensì possiamo seguire nella identificazione di tali corpi. Il primo vien fornito dal loro comportamento di fronte ai reagenti microtecnici. Dico subito che il metodo che li mette meglio in evidenza è quello del Maximow, ma essi si scorgono anche, quantunque molto meno bene, dopo fissazione con sublimato alcoolico-acetico e con la miscela del Regaud. Il liquido Benda conserva male tutto il parenchima ovarico nella cagna mentre riesce benissimo nella coniglia, nella cavia, nel maiale ecc. Ond' è che sui risultati di quest' ultimo procedimento non si può basare alcuna sicura illazione. Però il fatto che si colorano col Maximow e col Regaud, usati largamente da diversi autori per mettere in evidenza il condrioma, potrebbe indicarci come probabile la loro natura mitocondriale. È vero che tali metodi non sono specifici ma dobbiamo tener presente che nessun metodo, nemmeno il Benda, è specifico. A questo proposito riconosciamo legittimo il dubbio che Duesberg (1912) avanza a riguardo dei pseudocromosomi del van der Stricht. Egli dice difatti: Die plastochondriale Natur der Pseudochromosomen ... ist nach meiner Meinung sehr zweifelhaft; ... andrerseits sind die Farbreaktionen der Pseudochromosomen eher ein Argument gegen ihre plastochondriale Natur, denn sie nehmen mit großer Intensität die Kernfärbemittel, wie Safranin, auf, was sicherlich für echte Plastosomen ganz exzeptionell ist.

Ma si potrebbe opporre che fino a quando ci mancherà un metodo specifico di colorazione dei mitocondrii, il fatto che dati corpi si mettano in evidenza con altri liquidi, oltre a quelli preconizzati come buoni fissatori del condrioma (e tali son ritenuti il Maximow e il Regaud) non può escludere la loro natura mitocondriale, come a rigore non l'afferma il fatto che date formazioni si colorano con i cosidetti processi mitocondriali. Ben a ragione certo il Benda (1902) non volle pronunziarsi sulla natura dei pseudocromosomi visti in preparati del van der Stricht, ma in seguito (1904) finì col considerarli come mitocondriali, tanto che propose il nome di »Chondriorabden«. Nel 1905 il van der Stricht stesso confermava l'ipotesi che i pseudocromosomi da lui trovati nell' oocite della donna, fossero di natura mitocondriale.

Il criterio microchimico non basta nemmeno per indicarci se i corpi

filiformi da me trovati nella cagna si possano rapportare a quelle strutture specifiche che furono considerate da P. e M. Bouin (1898), come ergastoplasma, e che furono anche recentemente descritte da Pacaut e Vigier (1905), da Hoven[1]) (1912), da Loewenthal (1908), da Regaud e da altri in elementi diversi. Potrebbe nascere l'idea, che si tratti di apparato reticolare del Golgi. Ma il comportamento ulteriore di essi lo fa subito escludere, nonostante la rassomiglianza che talvolta i filamenti citoplasmici in parola presentino con un reticolo del Golgi, e nonostante che io stesso sia riuscito qualche volta a colorarne una parte col metodo dell' impregnazione argentica. Del resto, il condrioma da qualche autore (Pensa[2]) [1912] — Luna [1913]) è stato colorato col metodo Golgi, mentre qualche altro ha colorato il reticolo del Golgi (Comes [1909]) con metodo Benda.

Un altro criterio, nella determinazione di questi corpi, viene apprestato dal loro aspetto morfologico: Essi rassomigliano molto da vicino a talune di quelle formazioni che il van der Stricht trova nell' oocite di Vesperugo, specialmente a quelle raffigurate nella Tav. I che accompagna la memoria del 1905. Anche la figura 6 del lavoro di Heidenhain (1910) rappresentante i pseudocromosomi di una cellula cartilaginea di larva di salamandra è vicina alla mia fig. 1. Ma la rassomiglianza è quasi nulla con i centroformi del Ballowitz (1900), con le »spicules« del von Winiwarter (1900) fors' anche con i corpi figurati dal d'Hollander (1902) nell' oocita degli Uccelli, dall' Holmgren (1900) e dal Sjöwall (1906) in altro materiale[3]).

Resta il criterio fisiologico, per così dire. Esso verte sulla funzione dei pseudocromosomi e sul rapporto che essi contraggono con altre formazioni. Difatti vedremo come i filamenti osservati nell' oocite di cagna diano

---

[1]) È noto del resto come Hoven affermi essere l'ergastoplasma non altro se non condrioma mal fissato. Altri autori, fra cui Prenant e van der Stricht (1905) identificano il condrioma assolutamente con l'ergastoplasma di Bouin e Garnier.

[2]) Nonostante l'affermazione del Pensa stesso (1913) a me sembra che il suo metodo non sia che una modificazione del procedimento di Golgi.

[3]) Io sono d'accordo col Perroncito (1910) e col Terni (1914) in questo, che molte formazioni dette »pseudocromosomi« non abbiano nulla a che vedere con i mitocondrii del Benda-Mewes. Ma, specialmente a proposito dell' ultimo lavoro del Terni, edito quando il presente era già quasi finito, mi sia lecito dire, che, pur ammirando lo sforzo dell' A. diretto a mettere un po' d'ordine nel mare magno delle idee regnanti sulle formazioni intracitoplasmiche, non posso non riconoscervi il valore di un mero tentativo e per giunta forse anche immaturo. Non sembrami, che si possa decidere tanto facilmente sulla natura mitocondriale o no delle cosidette formazioni periidiozomatiche, che, se ben ho capito, l'A. divide in mitocondriali e dittosomiche. Forse è da accettare, appunto per la sua indeterminatezza il vocabolo »periidiozomatiche«, ma l'altro (dittosomiche) mi sembra azzardato, e solo adatto ad ingenerare ancor più confusione in questo argomento già fin troppo ingarbugliato.

origine alla cosidetta »couche vitellogène«, la quale è stata universalmente considerata di natura mitocondriale. Quindi i pseudocromosomi, se danno origine a questa formazione, senza che il loro comportamento cambi di fronte ai reagenti, come vedremo, e solo subiscono il fenomeno,direi quasi, fisico dello spezzettarsi in granuli, non è dubbio che siano mitocondriali.

Ancora, questo concetto è rafforzato dalla somiglianza che, quanto alla funzione, essi mostrano con numerosi corpi filiformi descritti come mitocondrii (condrioconti) da non pochi autori, per i quali siffatte formazioni dan luogo, trasformandosi, a strutture specifiche delle cellule.

Il Levi stesso (1913) in un lavoro recentissimo accenna all' esistenza, in oogonii e in giovani oociti a nucleo deutobroco, nei cordoni corticali di *Bos taurus* e *Sus scr.* embrionali, »nel citoplasma, di condrioconti assai sottili e sinuosi«.

Detto criterio per di più ci dà buoni argomenti per decidere ulteriormente sulla natura dei filamenti in parola.

Abbiamo visto come essi non assumono veri e costanti rapporti con il nucleo vitellino, il quale è probabilmente mancante. In ogni caso, essi si son trovati senza precisa orientazione, sparsi per tutto l'ooplasma. Cade quindi ogni possibile omologia con i pseudocromosomi dell' Holmgren, con i centroformi del Ballowitz, colle centralkapseln dello Heidenhain. La mancanza poi di permanenza fa escludere ogni rassomiglianza con l'apparato del Golgi e della sua scuola.

Un altro punto ci resta a rischiarare. Abbiamo accennato avanti all' esistenza di granuli colorati dal Sudan nell' oocite giovanissimo, e posti nel polo stesso in cui vanno ad orientarsi prevalentemente i fili descritti. Sarebbe opportuno conoscere quale rapporto interceda tra queste due specifiche formazioni. Ora, esse, pare che siano indipendenti l'una dall'altra, per quanto si possano trovare nello stesso polo. Nessun aspetto ci autorizza a crederle derivate una dall' altra. La loro origine va certamente cercata nelle ovaie embrionali; e, quantunque manchi di speciali osservazioni al riguardo, non sarei alieno, data la posizione e la forma di esse, dall' avanzare l'ipotesi che possa trattarsi di materiali derivati dalla degenerazione del nucleo di Balbiani.

Il nucleolo deve essere preso in considerazione fin da questo stadio. Esso difatti mostra una cromaticità rilevante dopo colorazione con Ematossilina Ferrica, o altri coloranti basici, su pezzi fissati con Benda, Maximow, Tellyesnickzy ecc. Col metodo Ciaccio è incoloro; alla sua periferia esterna si trova spesso attaccato qualche granulo rotondeggiante, piuttosto piccolo, colorato uniformemente come il nucleolo stesso. Altri

granuli di natura identica si trovano sparsi nell' interno del nucleo, e solo raramente qualcuno nel citoplasma, specie nel polo contenente il filamento di natura mitocondriale. Infine talvolta il nucleolo è più chiaro, ma contiene nell' interno uno o due corpuscoli sferici, distinti dalla più energica reazione di fronte alle tinte nucleari.

Follicolo giovane.

Dico subito, una volta per sempre, che l'evoluzione del condrioma e dei materiali deutoplasmici esistenti nell' oocite non segue rigorosamente le diverse fasi dello sviluppo degli altri elementi di questo. Ond' è che gli accenni all' età del follicolo come andranno fatti, dovranno essere sempre presi in senso generale e relativo.

L'apparato filare dell' oocite diventa sempre più ricco di elementi, col crescere dell' oocite, fino ad arrivare a un gomitolo di notevole grandezza. Contemporaneamente a questo maggiore sviluppo, fra le anse del gomitolo si assiste all' accumularsi d'un prodotto omogeneo, quasi un liquido coagulato dai reagenti, la cui quantità va man mano aumentando e la cui origine dev'essere dovuta al filamento del gomitolo. La granulosa fino a questo momento, come risulta da uno studio precedente (1914), non è ancora entrata in funzione. Essa è costituita da uno strato di cellule basse, a protoplasma omogeneo.

Intanto le anse del gomitolo diventano meno evidenti, affondate come sono nel materiale omogeneo sopra descritto. Non tardano però a spezzettarsi (tav. XXXV fig. 4) mentre la loro struttura intima diventa più chiaramente microsomica. Abbiamo visto difatti come, dei filamenti primitivamente esistenti nell' oocita, alcuni sono perfettamente lisci, omogenei, altri invece si presentano come costituiti da un cilindro di sostanza, dentro cui esistano granuli rotondeggianti, piccoli, più fortemente colorati. Ora, sembra che in un momento determinato, mentre la sostanza fondamentale del filamento si discioglie, dando probabilmente origine al liquido di cui è stata parola, i granuli si mettano in libertà. È certo che ulteriormente si trova, in un polo dell' oocite un ammasso, che guardato a fortissimo ingrandimento si risolve in una sostanza omogenea dentro cui si trovano brevi filamenti granulari, e vicino a questi, corpuscoli sferici speciali, di colorito e forma simili a quelli osservati dentro il filamento. Talvolta il diametro della sostanza fondamentale è minore del diametro dei granuli da essa contenuti, cosicchè appaiono dei fili con rigonfiamenti piuttosto simili a quelli descritti col nome di »Anschwellungen« dallo Schultze (1911) e da altri nei condrioconti delle cellule secernenti. Le fasi di tal processo,

come si vede, si possono rapportare a quelle studiate dal Regaud (1909) nelle cellule renali.

Intanto, siccome i filamenti si sono quasi completamente riuniti in un polo dell' oocite, è a questo punto che comincia la formazione di un ammasso granulare, che, come vedremo, è l'omologo di quello descritto dalla scuola belga col nome di »couche vitellogène«.

Prima di andare avanti nella descrizione delle trasformazioni subìte dal gomitolo mitocondriale, ci pare opportuno fare alcune osservazioni a proposito della forma del follicolo negli stadii descritti. Essa è caratterizzata dalla presenza di uno strato piuttosto compatto di cellule, che circondano l'oocite (granulosa) ed hanno forma quasi cilindrica: già i nuclei di alcune di esse cominciano a spostarsi in guisa da situarsi poi su due linee concentriche, come descrissi nel precedente lavoro (1914). La sezione del follicolo non è più circolare, ma spiccatamente ovale e piuttosto ellissoidale. Nemmeno l'oocite è sferico, ma ovale, per quanto leggermente. Il nucleo non è mai nel centro. È vero che talvolta si trovano follicoli rotondeggianti, ma la loro forma si spiega ammettendo che il taglio sia caduto normalmente all' asse più lungo del follicolo, il quale non sarebbe realmente sferico. Difatti ho notato che in genere, nei follicoli di questa forma il materiale rappresentato dal gomitolo mitocondriale, ancora intatto o in principio di trasformazione granulare, è disposto su due poli. Del resto meglio d'ogni altra spiegazione valgono le schematiche seguenti in cui x—x, x'—x', (Fig. a), rappresentano le direzioni del taglio, che danno luego alla Fig. b.

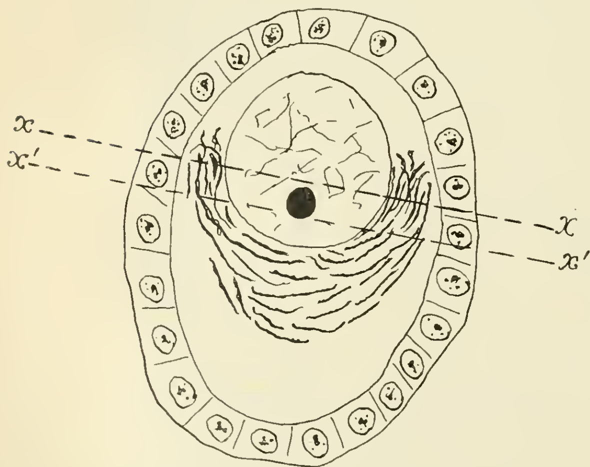
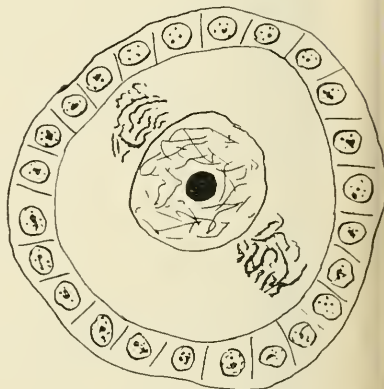


Fig. a.


Fig. b.

Ora, sembrami legittimo affermare che la forma del follicolo è in relazione coll' attività elaboratrice dei materiali deutoplasmici, e nello stesso tempo, che tutta la formazione follicolare presenta una certa elasticità. E perché non dovessimo ritornare più sulla descrizione della forma follicolare, dico che la figura circolare (val quanto dire sferica) riapparirà nel follicolo quasi maturo. Che la forma del follicolo si possa considerare come una funzione dell' attività del deutoplasma, risulta chiaro dalle seguenti osservazioni:

1) nel follicolo primordiale (sferico o quasi) il materiale intraooplasmico (tav. XXXV fig. 1, 2 e 3) è sparso irregolarmente, ma uniformemente in riguardo all' estensione della cellula. Del resto detto materiale può considerarsi ancora allo stato quiescente.

2) nel follicolo giovane, man mano che il materiale si accumula in un polo, il nucleo viene spinto nel polo opposto, l'ovo si allunga secondo questa direzione, e con esso anche il follicolo (tav. XXXV fig. 4).

3) nel follicolo che attraversa gli stadî posteriori, il materiale, come vedremo meglio, si distribuisce ordinatamente in tutto l'ooplasma e circonda il nucleo ugualmente da tutte le parti; quindi, mentre questo si riporta al centro dell' oocite, il follicolo ridiventa sferico (tav. XXXV fig. 6).

Abbiamo visto come il gomitolo mitocondriale, prima di dissolversi in granuli acquisti una spiccata tendenza ad accumularsi in un polo. Tale caratteristica però non è costante; ma è sempre reale il fatto della sua persistenza in una zona perinucleare più o meno estesa, la quale però va allargandosi, quanto più inoltrato è il fenomeno dello spezzettamento in microsomi rotondeggianti. Fra lo stadio filamentoso del condrioma poi, e lo stato granulare, si trovano facilmente tutte le figure di transizione.

Così viene a costituirsi un ammasso di corpuscoli sferici, che per diverse ragioni possiamo ritenere analogo alla cosidetta couche vitellogène del van der Stricht; la sua origine, la sua forma e l'ulteriore sviluppo ce lo indicano chiaramente.

Quanto alla natura di esso, noi non dubitiamo di considerarla come mitocondriale.

Anzi tutto il criterio dell' omologia: il van der Stricht (1905) è riuscito a colorare con il metodo Benda i microsomi specifici che costituiscono detta »couche« nel giovane oocite di donna; inoltre la sua colorazione con i metodi di Maximow e di Regaud, infine l'accordo unanime degli autori, compreso il Benda, che hanno avuto occasione di occuparsi di tale formazione. Unica voce discordante possiamo chiamare quella del Levi e della sua scuola. Il Prof. Levi (1912) descrive nelle ova di *Geotriton fuscus* numerosi filamenti, che interpreta di natura mitocondriale.

Essi si accumulano prevalentemente in un polo dell'oocite, costituendo però un semplice ammasso senza quasi individualità, nemmeno morfologica. L'Autore esclude assolutamente il loro spezzettarsi in granuli, ed afferma che rimangano allo stato bacillare per tutta la vita dell' oocite. Io non posso entrare nel merito della questione. È certo che nella Cagna non avviene così. In preparazioni riuscite si vedono contemporaneamente granuli e filamenti, quindi è impossibile sostenere col Levi che i granuli siano di formazione artificiale dovuta alle manipolazioni tecniche. Inoltre nella stessa sezione si riscontrano oociti con soli filamenti e oociti con soli granuli, corrispondenti tanto i filamenti che i granuli a stadî ben definiti dello sviluppo follicolare ed ovarico[1]).

Lo studio accurato del condrioma in questo animale potrebbe poi dare a vedere come tali granuli esistono in una certa fase, nell' interno del filamento che ho descritto nei primi stadî dell' oocite, cosicché, mentre nel materiale adoperato dal van der Stricht, dal Lams (1910—1914) e da altri[2]) il condrioma è fin dai primi momenti granulare, nel mio materiale esso mostra una evoluzione caratteristica, tutto un processo ben individualizzato e ben definito, che si svolge regolarmente nelle diverse fasi che attraversa l'oocite in crescita. Le modificazioni cui va incontro il materiale descritto non si fermano quì. Non appena esso si è costituito va estendendosi rapidamente intorno al nucleo (tav. XXXV fig. 5), in modo da avvilupparlo completamente a guisa di mantello (tav. XXXV fig. 6). In questo momento il nucleo assume una posizione centrale nell' oocite. Le granulazioni mitocondriali man mano acquistano un volume maggiore e cominciano in mezzo ad esse ad apparire dei granuli osmiofili, che hanno una grandezza uguale alla grandezza dei più grossi granuli specifici del mantello. Il processo di trasformazione, meglio che in altri preparati si segue in quelli ottenuti con metodo Benda-van der Stricht. In questi, ad un certo momento si scorgono, fra i granuli circumnucleari, primitivamente isodiametrici, alcuni ammassi compatti che non tardano ad assumere forma sferica e si colorano fortemente in nero lucido con l'Ematossilina Ferrica secondo il metodo Heidenhain. Ulteriormente perdono tale affinità cromatica e vanno assumendo un colorito grigio tendente al gialliccio, finché non si tingono che in giallastro. Lasciando le sezioni decolorate,

[1]) Non mi sembra inopportuno far qui presente il dubbio che il metodo Maximow talvolta non metta in evidenza tutto il condrioma; parmi difatti che i mitocondri visibili in materiale fissato con tal metodo siano quantitativamente minori di quelli visibili con altri metodi. Ciò potrebbe forse spiegare la assenza di granuli in certi preparati.

[2]) Lo stesso Levi (1913) accenna alla »forma prevalentemente granulare« dell'apparato mitocondriale »quando l'oocite è circondato da un epitelio follicolare«.

cioè montandole immediatamente dopo averle sparaffinate, tali corpuscoli, nello stadio più avanzato sono neri per l'acido osmico. Sparaffinando dette sezioni di materiale fissato in Benda, montandole immediatamente in gomma-sciroppo Apathy si può talvolta vedere come il processo di trasformazione lipoide cominci dalla periferia del granulo, per procedere in tutto il granulo. Difatti, in un primo stadio, il granulo è incoloro, ma mostra un cerchietto periferico nero, che estendendosi sempre più occupa tutto il granulo. Così viene a costituirsi il vero e definitivo deutoplasma, il quale deriva dagli elementi del condrioma, giusto l'idea sostenuta dal van der Stricht, per il quale i corpuscoli costituenti la »couche vitellogène« dell'ova dei Mammiferi darebbero origine a specifici ammassi mitocondriali (boyaux vitellogènes) i quali si trasformerebbero in deutolecite. Anche il Lams (1906—1907), Lams e Doorme (1908), il Rubaskin (1905), il Luna (1912—1913) il Cotronei (1912) appoggiano con varie osservazioni questa ipotesi, la quale trova un forte oppositore in Levi (1911—1912). Quest' Autore argomenta la non partecipazione del condrioma alla formazione del deutolecite, nell' ovaia dei Rettili, anzitutto dalla persistenza del condrioma, secondariamente dalla sua immutabilità di struttura. Quanto a quest' ultima osservazione, ho detto avanti quello che si deve pensare a proposito delle ova di cagna, mentre vedremo più tardi il valore della prima, almeno nel mio materiale. Che del resto il condrioma possa dare origine a strutture specifiche è stato sostenuto da numerosi autori, possiamo anzi dire da quasi tutti quelli che si sono occupati di questa formazione[1]). Sembrandomi inutile rifare la storia delle osservazioni in proposito, esposta criticamente e con abbondanza di particolari dal Duesberg in un recente lavoro riassuntivo (1912), accenno solo ai lavori, già citati del van der Stricht, del Regaud, Regaud e Mawas. Il Russo (1912) poi ha potuto seguire anche le modificazioni di ordine microchimico che subiscono i granuli mitocondriali dell' oocite di Coniglia nel passare a corpuscoli di deutoplasma. Essi difatti, mentre in un primo momento si colorano elettivamente in violetto col metodo Benda, ulteriormente ed in modo graduale vanno perdendo questa caratteristica, e si tingono in rosa.

Mentre nell' interno dell' oocite si avverano i fenomeni descritti, le cellule follicolari cominciano ad esplicare la loro attività secretrice secondo

---

[1]) Alla tesi del Levi pare si avvicini il Mislawsky (1911) che, osservando il comportamento del condrioma, dice di non avere alcuna prova per ammettere che esso si muti in granuli di secreto »obgleich« aggiunge »ich sie dennoch nicht vollständig ausschließen kann«.

i processi già studiati in un precedente lavoro (1914), e che non credo dover rammentare quì.

Il loro prodotto è costituito da granuli minutissimi, i quali dalla loro base, impiantata sulla membrana ovulare, passano nell' ooplasma (tav. XXXVI fig. 8) raggiungendo il materiale derivato dalla couche vitellogène, con cui in parte si mescolano. Ciò spiegherebbe il fenomeno già notato da altri, pel quale a questo momento le granulazioni mitocondriali aumentano di numero (van der Stricht, 1911). Molto spesso, in questo e negli stadî seguenti si vede netto e ben distinto lo strato di granuli originati dalla couche e quello derivato dalle cellule follicolari. Quando l'uovo raggiunge uno sviluppo più avanzato le due qualità di materiale non si possono più distinguere l'una dall' altra.

Durante queste fasi la emissione di granuli dal nucleolo diviene oltremodo evidente ed assume proporzioni ben rilevanti. Anche la loro origine nucleolare è facilmente dimostrabile. Difatti, con alcuni metodi, specialmente col metodo di Maximow e col metodo Ciaccio, con colorazione all'Em. Ferrica, è agevole scorgerli prima dentro al nucleolo (tav. XXXVI fig. 9 e 10), ove si manifestano come sferule di colorito ben più forte del resto della sostanza nucleolare[1]), e poi si vedono venir fuori, lasciando spesso al loro posto dei vacuoli, che si obliterano subito. In certe sezioni si nota qualcheduno di questi granuli metà ancora dentro il nucleolo e metà già fuori, in modo che dànno l'idea di una gemmazione. Non altrettanto chiaro è il processo col quale essi escono fuori dal nucleo per spargersi nell' ooplasma. Solo di rado ho incontrato di tali sferule poste parte dentro, parte fuori il nucleo, come attraversando la membrana nucleare meccanicamente. Il colorito, la forma, la posizione nel citoplasma ovulare non ci lasciano però dubbio alcuno sull' origine di questi corpi e sulla loro provenienza dal nucleo.

Pare che l'uscita dal nucleo si avveri particolarmente dal lato più vicino alla massa mitocondriale (couche vitellogène). Appena entrato nell' ooplasma, il granulo mantiene i caratteri che lo distinguono nel nucleo: compattezza, uniformità di colorito, forte affinità per le sostanze basiche, forma perfettamente sferica. Man mano però che si interna nell'ooplasma, specialmente se attraversa la massa mitocondriale, diventa più irregolare di volume, spesso più piccolo, meno colorato, talvolta anche con uno o più vacuoli (tav. XXXVI fig. 11). Il processo di dissoluzione che l'attacca, incomincia sopratutto quando la sferula si trova verso il limite della

---

[1]) Né questi né altri corpi dentro il nucleolo si colorano con l'acido osmico o col Sudan III, salvo che l'ovo non sia degenerato.

»couche«, cioè nella regione in cui i materiali di questa si confondono con quelli derivati dalle cellule follicolari. Mentre oltrepassa questa zona, già la »couche« ed i materiali d'origine estra-ovulare finiscono di mescolarsi. Ê in questo momento sopratutto che i corpuscoli d'origine nucleolare vanno incontro al processo vero e proprio di disfacimento, riducendosi in granuli più piccoli, che a loro volta si disfanno in seno all' ooplasma. Che dei corpi d'origine nucleolare emigrano nel citoplasma, specialmente negli elementi sessuali (cellule ovariche e spermatiche) è stato già notato da molti autori, fra i quali, per ricordare solo quelli le cui ricerche hanno maggior attinenza con le presenti, notasi Balbiani (1883), Roule (1883), Fol (1883), Will (1884), Wielowicysky (1885), Leydig (1888), Scharff (1888), Haecker (1892), Henneguy (1893), Todaro (1893), v. Bambeke (1895—1898), Crety (1895), Mertens (1893), Henschen (1903), Chubb (1906), Comes (1906—1908), Goldschmidt e Popoff (1907), Popoff (1907), Cotronei (1912)[1]).

Di essi, alcuni ritengono che i corpi d'origine nucleolare siano destinati alla costituzione del corpo di Balbiani propriamente detto, altri alla massa vitellogena, altri alla diretta costituzione, previa chimica trasformazione, di sferule vitelline; infine qualche altro (per es. Balbiani), alla costituzione del nucleo delle cellule follicolari. Ê da tener presente però che quasi tutti studiano siffatte trasformazioni in elementi molto giovani.

Senza addentrarmi in un riassunto critico, mi basta accennare quì, in riguardo al mio materiale di studio, che i corpi nucleolari, nella cagna, sono ben evidenti e numerosi nel citoplasma degli oociti già avanzati nello sviluppo: quindi il loro ufficio non è o non si può restringere alla sola formazione del corpo vitellino. D'altra parte, presentandosi il materiale eccezionalmente favorevole per seguirne tutte le modificazioni, posso escludere che tali granulazioni d'origine nucleolare siano destinate a trasformarsi direttamente in globuli vitellini. Esse, per la forma e pel comportamento si differenziano in ogni momento da tutti gli elementi che, come vedremo subito, dànno origine ai corpuscoli di vitello.

Ê anche incontestabile la non partecipazione, almeno diretta, dei cromosomi all' edificazione di tali corpi, perché essi prendono origine unicamente dal nucleolo, contrariamente a quanto è stato quasi concordemente affermato dagli autori precitati, pei quali il nucleolo non avrebbe

[1]) A riguardo di quest' ultimo Autore, bisogna notare come egli non ammetta la fuoruscita di corpi figurati dal nucleo, ma il passaggio, per processo osmotico di una sostanza che integrerèbbe la »fascia vitellogena« nell' oocite di Antedon.

mai parte alcuna all' edificazione dei materiali destinati a passare nel citoplasma. Qual'è l'ufficio di questi granuli nell' uovo? Mancano gli elementi di fatto per avanzare una qualunque teoria. Solo si potrebbe, in vista dei fenomeni descritti, e specialmente della coincidenza di loro formazione con il processo deutoplasmagenetico, credere che essi intervengano, sebbene indirettamente, nel processo della vitellogenesi. Così possiamo dare una affermazione concreta alla supposizione di R. van der Stricht (1911) pel quale l'ufficio, ipotetico d'altronde, del nucleo, si ridurrebbe ad esercitare »une influence de voisinage, de nutrition, sur la zone endoplasmique«.

Non sarei alieno dal paragonare tale azione al processo della catalisi, o forse meglio a quello esplicato da certi fermenti figurati. Non avrebbero cioè i granuli nucleolari influenza sulla trasformazione dei materiali contenuti nell' oocite?[1])

Nella maggior parte degli oociti la zona mitocondriale originatasi a spese della »couche vitellogène« si diffonde ben tosto in tutto il protoplasma (tav. XXXV fig. 6), assumendo in seguito una forma generale reticolata più o meno evidente, cui si potrebbe dare il nome di rete mitocondriale primaria, onde distinguerla dall' altra che nell' ulteriore sviluppo sarà costituita per attività delle cellule follicolari, a cui va il titolo di secondaria. Or avviene che tutta la sostanza derivata dalla »couche« nonché i pochi granuli originatisi per attività delle cellule follicolari si trasformano rapidamente in gocciole di natura lipoide. Tale trasformazione fa sì che i granuli di sostanza mitocondriale vengano d'un tratto a subire una profonda diminuzione di quantità, anzi si può dire che addirittura spariscono. In tal modo si intercala, nel periodo di accrescimento dell' oocite, una fase in cui quasi non c'è condrioma, essendo sostituito da materiali deutoplasmici (tav. XXXV fig. 7).

Questa fase, di grande interesse per il lato citologico e per la storia ed il valore del condrioma, fu già vista dal Russo (1910) nei suoi studii sull'oocite di Coniglia. Questo Autore, a proposito dell'osservazione a lui fatta dal Giglio-Tos (1908) per il quale i mutamenti subiti dal condrioma non si potrebbero mettere in rapporto con l'ipotesi della sua partecipazione alla formazione dei caratteri ereditarii, così si esprimeva (pag. 179): »Del resto, è ovvio ricordare che la cellula non è un campo chiuso, per credere che i mitocondrii siano intangibili, ma che essa

[1]) A questa stessa supposizione, appoggiandosi però a ricerche sperimentali giunge anche Comes (1908).

nelle sue molteplici manifestazioni vitali, risente tutte le influenze dell' ambiente, anche le minime che noi, con i nostri mezzi di osservazione, spessissimo non possiamo rilevare«[1]). Ancor una volta il fenomeno della scomparsa quasi completa del condrioma sarebbe una prova per dimostrare che il condrioma non è un' entità citologica assolutamente costante e persistente, ma va incontro a mutamenti che sono in dipendenza delle condizioni e del momento fisiologico che l'elemento in cui esso si trova, attraversa. Anche il Luna (1913) nel corso delle sue interessanti ricerche trova che »nell' embrione di pollo i plastosomi dell' epitelio pigmentato (della retina) sono dapprima molto abbondanti, ma in seguito si riducono sempre più di numero . . . fino a che scompaiono del tutto (8° giorno di incubazione) . . . al 17° giorno riappare il condrioma in forma di granuli prima e poi di brevi bastoncini ed anelli«. Del resto il Regaud (1910) aveva già notato nelle cellule renali il rapporto inverso che esiste tra la quantità dei plastosomi e la quantità dei prodotti di secrezione esistenti nella cellula a seconda della fase d'attività elaboratrice che essa percorre. Lo stesso risultato si può ricavare fra altro, dalle ricerche del Dubreil (1911), Hoven (1911). Quest' ultimo A. in un altro lavoro (1912) investigando l'ufficio del condrioma nell' elaborazione della cellula pancreatica, dimostra (pag. 564) come »au stade d'accumulation maximum du produit de sécrétion, il n'existe plus que quelques filaments et bâtonnets mitochondriaux« e li considera come »réserve mitochondriale, qui servira ultérieurement à reconstituer le chondriome de la cellule glandulaire«.

Ho potuto osservare che il condrioma dell' oocite di cagna, esauritosi nel dar origine al deutolecite, si ricostituisce subito dopo, a spese dell'attività elaboratrice delle cellule follicolari [2]).

Difatti, non appena cominciano ad apparire i globuli di grasso, gli elementi della granulosa ovulare accentuano straordinariamente l'attività

---

[1]) Anche il Cotronei (1912) in *Antedon rosacea* vede scomparire completamente i »granuli basofili« (che egli omologa ai mitocondrii) durante la formazione del deutoplasma.

[2]) Già qualcuno aveva accennato (Bouin, Russo, Comes), a una probabile natura glandulare dell' oocite. Sembrami che i fatti che descrivo qui, siano una prova decisiva di questa ipotesi. Il parallelo che si può stabilire con le cellule secernenti in molte fasi dell' attività elaboratrice dell' oocite, l'intervento del nucleo, e per esso del nucleolo, la ricostituzione del materiale ecc., sono argomenti degni della massima considerazione per chi vuol approfondire il paragone tra i due generi di elementi (oocite e cellula glandulare).

secretrice. Le loro basi affilate si infarciscono talmente di sostanza, che non è possibile risolverla nemmeno coi più forti ingrandimenti, poiché essa è costituita da un ammasso compatto, stipato di materiale fortemente attaccato dai liquidi coloranti, specie dall' Ematossilina Ferrica. Tale materiale passando nella zona pellucida, che intanto s'è costituita, fa sì che questa si mostri sotto l'aspetto di un anello fortemente colorato. In seguito, dalla zona pellucida, esso penetra nell' ooplasma in cui, dapprima si dispone perifericamente, restando a contatto con la zona stessa, poi si sparge per l'ooplasma sotto forma di minuti granuli che si distribuiscono in modo da costituire una rete[1]) d'aspetto identico a quello descritto dal Russo nella Coniglia, con la differenza che mentre nella Coniglia tale rete esiste fin dai primi istanti dello sviluppo, nella cagna appare dopo la formazione del primo materiale deutoplasmico.

Alcuni autori fra i quali van der Stricht (1905—1911) hanno notato come, dopo la formazione di bolle grasse, si determini una zona di sostanza mitocondriale alla periferia dell' oocite. Ma tali A. non hanno pensato alla elaborazione delle cellule follicolari. Del resto la fotogr. a pag. 61 Tav. XIII del citato lavoro (1911) del van der Stricht, nonché altre, ci confermano l'esistenza di un rapporto tra la presenza di questi granuli, attaccati quasi alla zona pellucida, internamente, con un materiale esistente nella pellucida stessa, del quale l'A. non pare che tenga il debito conto. Solo a pag. 419 dice: »L'apparition de la couche corticale mitochondriale dénote une genèse de ces parties constituantes du vitellus, plus actives du côté de la surface, en rapport immédiat avec les prolongements des cellules le plus voisines«.

Sulla natura mitocondriale di questa rete di granuli, mi sembra inutile insistere, anzitutto perché la figura che essa assume nell' oocite si può senz'altro omologare a quella vista da non pochi autori (basta per tutti accennare ai lavori di Russo[2])) nelle ova di diversi Mammiferi, e da loro

---

[1]) Tale rete sarebbe (vedi avanti) la Rete mitocondriale secondaria.

[2]) A questo proposito non posso trattenermi dal notare come il lodevole risveglio che da qualche anno si accenna in Italia nello studio dei puri argomenti di citologia, coll' intervenire direttamente nelle questioni che si agitano sulla natura e i fenomeni del condrioma, prenda le mosse dalle geniali ricerche del mio illustre Maestro, prof. Achille Russo che per il primo in Italia intraprese lo studio di tali formazioni e ne determinò l'essenza intima con processi sperimentali, emettendo l'ipotesi di una natura lipoidea di tali microsomi. Questa ipotesi ora viene dimostrata in modo irrefragabile da recenti ricerche microchimiche! Mentre adempio, non senza orgoglio, ad un dovere di discepolo nel ricordare il posto speciale che ben meritano nella storiografia del Condrioma le osservazioni di Lui, sebbene gli Autori, anche italiani, lo abbiano troppo facilmente dimen-

considerata come mitocondriale. Del resto la derivazione delle cellule follicolari, in cui dallo stesso Benda (1901) (Topo) è stata dimostrata l'esistenza di un condrioma, le colorazioni specifiche che essa assume, la tendenza a disporsi in fili o catenette di granuli, allontanano qualsiasi dubbio. Quanto alla sua funzione, ho riscontrato in essa tutti i caratteri e le formazioni descritte avanti nella Rete mitocondriale primaria, cioè la costituzione a sue spese di granuli più grossi e la comparsa in seno ad essa di gocciole lipoidi.

Così, durante la fase di accrescimento dell' oocite, vediamo esplicarsi una continua attività formatrice di sempre nuovo ed abbondante materiale destinato alla nutrizione dell' oocite, e di cui una parte passa alle cellule delle prime forme embrionali, mentre un' altra viene presumibilmente adibita alla trasmissione dei caratteri ereditarii. Nè deve meravigliare questa notevole, se pur tardiva, formazione di deutoplasma, quando si pensi che »chez les Mammifères, les transformations vitellines ne se limitent pas à la croissance ovulaire et ne sont pas achevées vers l'époque de la rupture folliculaire; elles continuent pendant toute la période de la migration de l'ovule à travers l'oviducte, par conséquent pendant la maturation la fécondation et le début de la segmentation« (René van der Stricht, 1911, pag. 365). Anche Lams et Doorme (1908) trovano materiali deutoplasma-

---

ticato, anzi si siano mostrati talvolta troppo corrivi a criticarne le teorie, credo opportuno prevenire il dubbio che in altri potrà sorgere sulla natura mitocondriale del prodotto da me visto, nell' oocite di cagna, derivare dalle cellule follicolari, bastandomi per ciò mettere in rilievo la perfetta somiglianza con l'apparato scoperto dal Russo stesso negli oociti di Coniglia. È vero che la natura mitocondriale di tale apparato fu al Russo contestata dal Giglio-Tos, dal Perroncito e da altri, compreso il Levi, il quale però in ulteriori ricerche (Arch. d'An. e d'Embr. 1911) dovette convenire col Russo sulla natura di detto apparato. Del resto alcuni insigni istologi hanno espresso chiaramente parere favorevole alle vedute di questo Autore: proprio recentemente O. van der Stricht, in una lettera (Monitore Zool. Ital. XXII. No. 7) parlando delle granulazioni scoperte nell' oocite di Coniglia da Russo e la cui natura mitocondriale era stata negata dal Perroncito, dice: »Elles correspondent incontestablement à de véritables mitocondries«. A. Prenant inoltre, riferendo nell' ultimo volume dell' »Année Biologique« (1913) su un lavoro del Russo riguardante la polemica col Perroncito ebbe a dire che la figura diseguata dal Russo (Anat. Anz. XXXVII. 1910) »ne laisse aucun doute sur la nature mitocondriale du réseau décrit par R. et ne permet guère de le regarder comme deutoplasmique«. Dello stesso parere è il Duesberg, che nella particolareggiata rivista critica edita or è appena un anno, difende strenuamente tale veduta, così scrivendo, fra altro: Mit Recht bekämpft er (Russo) die übrigens ganz unhaltbare Meinung von Levi (1907) und Perroncito (1910), welche glauben, daß Russo weiter nichts als Dotterkörner gesehen hätte.

tici e mitocondriali in ova al 2° fuso di maturazione (ova ovariche) sebbene in quantità minore di quelli esistenti nello stadio di primo fuso. Nello stadio a due pronuclei (ovo tubarico) però le bolle grasse aumentano considerevolmente, mentre ancora i materiali mitocondriali sono presenti. Omero van der Stricht (1909) nell' ovo di V. noctula nota come al 2° fuso di maturazione »le nombre des boules graisseuses augmente notablement dans le deutoplasme« e nell' ovo tubarico di cagna, ai primi stadii di segmentazione »la graisse augmente encore en abondance«, Sobotta (1895) nell' ovo di Topo però non trova in questa fase granuli osmiofili, i quali del resto sono in tale animale sempre scarsissimi.

Tali fenomeni riescono di ovvia interpretazione quando si pensi che le cellule follicolari persistono nelle ova estraovariche, come ebbero a notare diversi autori (van der Stricht [1908], Sobotta e Burkard (1910], Rubaskin [1905]).

Quantunque diverse volte abbiamo dovuto accennare al modo con cui presentansi gli ooeiti in crescita, nelle ovaie fissate e colorate col metodo Ciaccio al Sudan III, tuttavia ci sembra opportuno fermarci ancor brevemente su di esse, per meglio farne risaltare il valore.

Si è già notata la presenza, nei follicoli primordiali, di un gruppo esiguo e ben determinato di granuli, messi in evidenza da questa preparazione, in un polo dell' oocite (tav. XXXVI fig. 12). In uno stadio più avanzato dello sviluppo siffatto gruppo viene a scomparire, mentre l'ooplasma acquista una colorazione rosso-rosea più o meno accentuata, la quale, come il Ciaccio stesso (1910) in altro materiale ha notato e dimostrato, rappresenta del grasso allo stato di soluzione e di diffusione nell' ooplasma. Ulteriormente, questa colorazione tende a scomparire, persistendo quasi solamente in un polo, ove forma una zona semilunare, costituita da un ammasso di struttura finamente granulare.

A poco a poco questo ammasso si estende sempre più intorno al nucleo, mostrandosi in tutto corrispondente alla couche vitellogène, la cui esistenza abbiamo dimostrato già con altri metodi[1]).

Durante tutto questo periodo manca assolutamente o quasi, nell'oocite, ogni gocciola o granulo di lipoide. — In seguito, a misura che l'oocite cresce e questa specie di mantello perinucleare si dissolve, l'ooplasma si infarcisce sempre più di sostanza sudanofila. Poco dopo compaiono dei

---

[1]) Il reperto, che questo materiale di natura mitocondriale si colora col metodo Ciaccio, viene in appoggio della tesi sostenuta dal Russo (1912) dal Fauré-Fremiet (1909), dal Regaud (1908), per i quali nell' intima struttura del mitocondrio prende parte un materiale lipoide.

granuli tinti fortemente in giallo arancio, i quali, dapprima sottilissimi (tav. XXXVI fig. 13), non tardano ad ingrossarsi, come se gonfiassero, e ad assumere l'aspetto di gocciole omogenee. (tav. XXXVI fig. 14).

Queste formazioni non restano sempre così: difatti negli stadii più avanzati dello sviluppo oocitario, esse perdono il loro caratteristico colorito arancio carico e diventano più pallide. Ulteriormente si riducono a cerchietti costituiti da uno strato periferico sottile, tinto ancora fortemente, e d'un contenuto trasparente, di leggero color roseo. Quindi, il cerchietto finisce anch' esso col perdere la tendenza a colorarsi col Sudan, di guisa che la gocciola primitiva si riduce ad una formazione, simile ad un grosso vacuolo, la quale sembra costituita da una gocciola di liquido omogeneo e trasparentissimo. Ad interpretazione delle descritte figure, credo poter inferirne una trasformazione graduale del materiale di natura lipoide, dovuta a procedimenti chimici che sfuggono ai nostri mezzi di osservazione; e ciò indubbiamente a beneficio dell' attività nutritizia dell' oocite in crescita.

Conclusioni.

Iniziando le presenti ricerche non mi sono preoccupato che di schiarire alcuni punti controversi della vitellogenesi nell' oocite dei Mammiferi. Si è visto così come l'oocite primordiale contenga una prima, piccola provvista di grasso, rappresentato da alcuni granuli sudanofili posti nel polo ove si inizierà il vero processo di deutoplasmagenesi, e di alcuni granuli osmiofili, sparsi per l'ambito di tutto l'ooplasma. Tali elementi lipoidi sulla cui origine, per mancanza di ogni dato di fatto, nulla possiamo affermare, verrebbero a poco a poco assorbiti dal protoplasma ovulare, il quale se ne gioverebbe come materiale di nutrizione. Esaurita questa prima provvista, i condrioconti, presenti già fin dagli stadii più giovani degli oociti esistenti nell' ovaia adulta, si spezzettano in tanti granuli, i quali, insieme con una piccola porzione di materiale derivato dalle cellule follicolari, costituiscono la seconda provvista che viene in parte trasformata, in parte rimane integra o quasi, a costituire delle speciali sostanze di riserva per l'oocite[1]). Dopo questo stadio, il materiale che penetra dal di fuori, elaborato dalle cellule follicolari, diventa assai rilevante e dà luogo a nuova produzione di condrioma, che a sua volta si trasforma in lipoide.

[1]) Dico materiale di riserva in mancanza di osservazioni personali che si rapportino all' ovo embrionato. Ma numerosi osservatori, dal Mewes (1910) al Duesberg (1908), all' Hoven (1910) al Fauré-Fremiet (1910), hanno dimostrato irrevocabilmente l'eredità del condrioma dalle cellule madri alle figlie, dall' ovo ai blastomeri e agli elementi dei foglietti primitivi.

Uno sguardo complessivo alle figure che accompagnano il presente lavoro potrà certo giovare a fissarne bene le idee principali, che sono andato svolgendo e a riassumere chiaramente la storia dell' evoluzione oocitaria nella cagna.

Difatti, i condrioconti della fig. 1, 2 e 3, tav. XXXV, costituita la fascia mitocondriale visibile nella fig. 4, tav. XXXV, allargandosi nello spazio ooplasmico (tav. XXXV fig. 5), incominciano ad estendersi per tutto l'ambito dell' oocite (tav. XXXV fig. 6), costituendo anche dei gruppetti e dei granuli più grossi, che nello stadio immediatamente successivo e con metodi adeguati (tav. XXXVI fig. 13) si vedono formare dei corpuscoli grassi, che in numero esiguo dapprima (tav. XXXVI fig. 15) vanno sempre più accrescendosi in quantità (tav. XXXVI fig. 15—16 e 17), e infarciscono l'ovocite sotto forma di granuli tinti in nero dal tetrossido d'osmio. Tali corpuscoli nelle sezioni di pezzi fissati con sublimato o miscela di Maximow appaiono come vacuoli (tav. XXXV fig. 7). In uno stadio successivo (follicolo con antro bene sviluppato) assumono l'aspetto di gocciole sferiche, specialmente se trattate con metodo Ciaccio (tav. XXXVI fig. 14). Intanto, non appena formatosi il deutoplasma derivato da elaborazione della fascia vitellogena, apparisce un condrioma nuovo, dovuto all' attività delle cellule follicolari, il quale si infiltra fra i granuli lipoidi ond'è che meglio si vede con i metodi che pur disciogliendo questi granuli, mettono tuttavia bene in evidenza i mitocondrii (tav. XXXVI fig. 8). Tra la formazione del primo e quella del secondo condrioma, può, ma probabilmente non sempre così nettamente, intercalarsi uno stadio privo di condrioma (tav. XXXV fig. 7).

Già il van der Stricht (1905) seguendo il van Bambeke (1898) divideva il processo vitellogenico in quattro fasi principali che si possono riassumere così:

1°) stadio della »couche vitellogène« a »croissant«,

2°) stadio della disgregazione della »couche«,

3°) formazione dei »travées vitellogènes« di natura mitocondriale,

4°) disgregazione dei »travées« e formazione dei globuli di deutolecite.

Secondo le ricerche che finisco di descrivere, queste fasi andrebbero modificate nel modo seguente:

1°) elaborazione ed assorbimento d'un materiale lipoide, di scarsa quantità e la cui origine vuol ricercarsi nell' ovaia embrionale.

2°) preparazione e costituzione dell' apparato vitellogenico, consistente in condrioconti lunghi, tortuosi, primitivamente lisci, costituenti

spesso un gomitolo irregolare, posto generalmente in un polo dell' oocite; secondariamente in condriosomi granulari (condriomiti).

3°) disgregazione dell' apparato e sua trasformazione in materiale grasso.

4°) scomparsa completa o quasi del condrioma; in ogni caso attenuazione notevole di esso, e sostituzione con granuli di natura deutoplasmica.

5°) Ricomparsa del condrioma sotto forma di rete granulare, con disposizione periferica, ma con gittate interne; la sua origine è dovuta all'attività delle cellule follicolari che circondano l'oocite.

6°) graduale trasformazione del nuovo prodotto in elementi deutolecitici.

Appendice.

Durante la redazione del presente lavoro, sono state pubblicate due memorie il cui argomento si avvicina di molto a quello che io finisco di trattare. Mi sembra quindi opportuno dire su di esse qualche parola.

Donato Cattaneo nel Vol. XII, fasc. 1° dell' Archivio Italiano di Anatomia e di Embriologia pubblica alcune sue »Ricerche sulla struttura dell' Ovario dei Mammiferi«. Non è mia intenzione né qui sarebbe il luogo di fare una critica minuta dei reperti ottenuti da questo Autore; del resto è a sperare che egli voglia con ulteriori studî approfondire e completare gli argomenti sfiorati in questo, argomenti di estrema importanza e delicatezza, la cui discussione non si può imprendere senza la massima circospezione e il più perfetto rigore di analisi.

Così egli interviene nella vecchia questione dei »ponti protoplasmatici« tra le cellule della granulosa e l'ooplasma »benché« egli stesso nota »su questo argomento siasi già scritto molto, e d'altra parte io me ne occupai solo di sfuggita«. Certo, dopo i lavori di Retzius, Paladino, Kolossow, Dubreil e Regaud, Russo ed altri [1]), la controversia non può risolversi »di sfuggita«. Né il Cattaneo la risolve; anzi possiamo dire che la sua fig. 32 se pur non è teorica, sia poco adatta a rappresentare la struttura in parola.

Passo subito alla parte più originale del lavoro in esame: il reperto di un apparato reticolare nella cellula ovo dei Mammiferi. Or, io non posso contestare questo reperto in sé stesso; però il modo come l'A. ne dimostra l'esistenza, e le conclusioni a cui perviene, specialmente quelle che si riferiscono al condrioma, non sembra che poggino su solida base.

---

[1]) Vedere il mio lavoro: Ulteriori ricerche sulla granulosa del follicolo ovarico nei Mammiferi (cagna), in questo Archivio Bd. XII, 2. Heft, 1914.

Di fatti l'A. nei giovanissimi ovociti di Vesperugo trova e disegna (tav. II fig. 16, 17) presso al nucleo un reticolo che viene messo in evidenza con il metodo Fananas al nitrato d'uranio, ma riesce identico a quello che egli stesso rinviene fissando lo stesso materiale in liquido Flemming e colorando con Ematossilina Ferrica (vedi tav. I, fig. 11 del suo lavoro). Chi ha pratica di questi metodi[1]) conosce quanto sia difficile, anzi direi quasi impossibile decidere in simili casi sulla natura di tali formazioni: si tratta cioè di apparato reticolare nel senso di Golgi o di condrioma nel senso di Benda? Lo stesso Cattaneo (pag. 3 della sua memoria) afferma: »...i metodi all' impregnazione metallica non mettono in evidenza esclusivamente l'apparato reticolare di Golgi: allo stesso modo che i metodi classici dei mitocondrî colorano ora i mitocondrî, ora formazioni che indubbiamente si devono riferire all' apparato reticolare, ora strutture che non hanno a che fare né con quelli, né con questo, così i metodi dell' argento ridotto dimostrano negli stessi elementi cellulari oltre l'apparato reticolare, spesso formazioni mitocondriali, qualche volta l'uno e le altre contemporaneamente.«

Orbene, le formazioni messe in evidenza nell' oocite giovanissimo, dal Cattaneo, furono scoperte dal van der Stricht nello stesso materiale e da lui denominate »pseudocromosomi« nel senso stabilito da Heidenhain.

van der Stricht e Benda stesso li interpretano come di natura mitocondriale. Eppure il Cattaneo, dopo aver fatto atto di fede sulla fallacia dei metodi, afferma (pag. 14): »A mio avviso l'identificazione dei pseudocromosomi coll' apparato reticolare di Golgi nell' ovocito dei mammiferi, si deve ammettere senz' altro. Si tratta della medesima formazione posta in evidenza con metodi diversi...« Ora io dico: se i metodi microchimici sono insufficienti, se la struttura morfologica delle formazioni è simile a sé stessa, coi due

[1]) A tal proposito Duesberg (1913) dice: Il n'est nullement démontré que les formations décrites sous ce nom [Apparato reticolare] représentent un organe déterminé de la cellule: je pense qu'elles correspondent à l'imprégnation argentique d'éléments de valeur différente. En effet: 1°) il ne faut pas croire que la méthode de Golgi soit spécifique: elle est susceptible de mettre en évidence des choses toutes différentes; 2°) la preuve que les formations décrites sous le nom d'appareil réticulaire soient homologues, n'a jamais été fournie, ni même tentée: or parmi les éléments décrits sous ce nom, il en est ... qui ne présentent aucune analogie avec l'appareil réticulaire typique ... 3°) Ce qui est décrit comme appareil rét. correspond dans certains cas à des formations bien connues et de valeur différente ... Su tali omologie si veda anche il lavoro dell'Hirschler (1913).

generi di processi, perché asserire, come fa l'A. a pag. 15: »L'avere io identificato i pseudocromosomi coll' apparato reticolare interno mi costringe a rifiutare l'interpretazione di VAN DER STRICHT e di BENDA sul significato dei pseudocromosomi nell'ovocito dei mammiferi«?

Potrei aggiungere che il comportamento ulteriore dell' apparato reticolare, quale lo descrive il CATTANEO non si discosta molto da quello del condrioma, come risulta dalle ricerche della Scuola belga e dalle mie precedenti osservazioni. Si è visto come i mitocondrii da un polo dell' oocite, ove si erano confinati, si estendono a poco a poco, fino ad occupare tutto l'ooplasma. In seguito si trovano alla periferia dell'oocite, spintivi dalla formazione del deutoplasma, come sostiene il VAN DER STRICHT, neoformati dall' attività delle cellule follicolari, come ho cercato di dimostrare in questo lavoro. Ebbene, il CATTANEO dice (pag. 12): »A mano a mano che l'ovocito aumenta in volume, l'apparato reticolare subisce importanti modificazioni. Esso tende a diffondersi nel vitello ed assume un aspetto più grossolano poiché i filamenti di cui è costituito appaiono interrottamente molto ispessiti. Ê difficile ottenere un reticolo unico e continuo, ma in generale si osservano delle interruzioni lungo il decorso dei filamenti.. In seguito a misura che l'ovocito si accresce l'apparato di GOLGI tende a portarsi alla superficie dell' uovo, finché da ultimo nei grossi ovociti con follicolo a completo sviluppo si trova situato alla periferia appena separato dalla zona pellucida da un tenue strato di citoplasma, venendo così ad assumere l'aspetto come di un involucro largamente fenestrato che circonda la maggior parte del vitello, ma situato però ancora nel vitello stesso.«

Or si noti: 1°) che il VAN DER STRICHT e la sua scuola hanno spesso osservato come i pseudocromosomi, spezzandosi, si ingrossano; 2°) che il CATTANEO, come dice, non trova (vedi fig. 18, 20, tav. II del suo lavoro) che filamenti e solo suppone che questi facciano parte d'un reticolo unico; 3°) che l'aspetto di fili può essere dovuto a un deposito di metallo tra elementi granulari (mitocondri). Difatti egli disegna (figg. 22 e 27) due ovociti entrambi indicati come »Ovocito grosso con follicolo maturo(?)« di Coniglia. Tutte e due presentano gli stessi corpi intracitoplasmici, con identica disposizione; sono addirittura sovrapponibili: però uno (fig. 22) al metodo FANANAS mostra questi corpi sotto l'aspetto di filamenti, l'altro (fig. 27) al metodo REGAUD-Ematossilina ferrica HEIDENHAIN, mostra questi stessi corpi sotto forma di granuli.

Mi sembra inutile prolungare la disamina, criticando le illazioni dell'A. sul rapporto tra i mitocondri ed il vitello. Ma non posso trattenermi dal segnalare il modo con cui egli spiega la mancanza di apparato reticolare nell' interno delle uova mature »L'assenza della sostanza a reazione specifica nell' interno delle uova mature non si deve riferire alla scomparsa totale, bensì si deve ritenere come espressione di una suddivisione estremamente fine«!

L'altro lavoro è del van Durme, dell' Università di Gand (Archives de Biologie, T. XXIX fasc. I). Basterà qui mettere in luce i punti di contatto tra i reperti del van Durme e quelli che finisco di descrivere. Nonostante la grande differenza nel materiale usato del van Durme (Uccelli) e da me (Mammiferi), noi siamo venuti in qualche argomento agli stessi risultati. Così, egli trova e interpreta come mitocondriali, dei sottili filamenti che descrive nell' interno della zona palleale e che chiama indifferentemente pseudocromosomi e condrioconti. Anch' egli nota, intorno agli ammassi dei condrioconti »une zone claire, imprégnée d'un liquide abondant, qui nous porte à croire que ces amas sont le siège d'une élaboration très active, ayant pour résultat la genèse du liquiden question«.

Inoltre, sull' argomento che credo più originale nel mio lavoro, cioè sulla presenza di due formazioni mitocondriali distinte, anch' egli porta un contributo, dimostrando che ad un certo momento nella vita dello oocite di Uccello, ci sono due regioni di moltiplicazione della massa mitocondriale: una centrale e perinucleare, l'altra corticale: l'A. fa chiaramente vedere come crede quest' ultima d'origine estraovulare. Difatti, a proposito della cellula follicolare, egli dice: »elle semble avoir une influence capitale sur l'apparition de la zone mitochondriale corticale«.

Ora, io credo appunto di aver dimostrato la presenza di un apparato microsomico originatosi per attività delle cellule follicolari, nella cagna.

Bibliografia.

BALBIANI, G. E. 1883. Sur l'origine des cellules du follicule et du noyau vitellin de l'oeuf chez les Géophiles. Zool. Anz.

BALLOWITZ, E. 1900. Über das Epithel der Membrana elastica posterior des Auges, seine Kerne und eine merkwürdige Struktur seiner großen Zellsphären. Arch. f. Mikr. An. Bd. 56.

v. BAMBEKE, CH. 1898. Contribution à l'histoire de la constitution de l'oeuf. Arch. de Biol. T. XV.

—— 1895. Elimination d'éléments nucléaires dans l'oeuf ovarien de Scorpaena scrofa L. Arch. de Biologie. XIII.

BENDA. 1902. Discussione. Verh. An. Ges. in Halle. S. 167.

—— 1904. Discussione. Verh. An. Ges. An. Anz. Ergänz. z. XXV. Bd.

BOUIN, P. M. Sur la présence de formations ergastoplasmiques dans l'oocyte d'Asterina gibbosa. Bibl. An. T. VI. S. 53.

—— 1905. Ergastoplasme, pseudochromosomes et mitochondries. A propos des formations ergastoplasmiques des cellules séminales chez Scolopendra cingulata. Arch. Zool. exp. (IV.) T. III.

CHUBB, C. G. The Growth of the Oocyte in Antedon; a morphological Study in the Cell-Metabolism. Phil. Trans. B. Vol. 198. London.

CIACCIO, C. 1910. Contributo alla distribuzione e alla fisio-patologia cellulare dei lipoidi. Archiv für Zellforschung. Bd. V. Heft II.

COMES, S. 1906. Sulle relazioni tra vescicola germinativa ed ooplasma nell' oocite di Serranus scriba Cuv. An. Anz. Bd. XXVIII.

—— 1908. Azione della Pilocarpina e dell' Atropina nell' oocite della Gatta. Atti Acc. Gioenia di Scienze Natli in Catania. Seria V. Vol. I.

—— 1909. Sulla natura mitocondriale dello »apparato reticolare delle cellule cartilaginee«. Boll. Accad. Gioenia di Scienze Naturali in Catania. Fasc. 6°. Serie II.

COTRONEI, G. 1912. La fascia vitellogena dell' oocite in crescita di Antedon rosacea. Arch. Zool. Ital. Vol. V.

CRETY, C. 1895. Contributo alla conoscenza dell' uovo ovarico. Ricerche Lab. Anat. Roma. Vol. IV.

DUBREIL, G. 1911. Transformation directe des mitocondries et des chondriochontes en graisse dans les cellules adipeuses. Comptes Rendus de la Soc. de Biologie. Paris.

—— 1913. Le chondriome et le dispositif de l'activité sécrétoire. Arch. d'An. Micr. T. XV.

DUESBERG, J. 1907. Die Mitochondrialapparate in den Zellen der Wirbeltiere und Wirbellosen. Arch. f. Mikr. Anat. LXXI. Bd.

—— 1910. Sur la continuité des éléments mitochondriaux des cellules sexuelles et des chondriosomes des cellules embryonnaires. Anat. Anz. XXXV. Bd.

—— 1910. Les Chondriosomes des cellules embryonnaires du lapin et leur rôle dans la génèse des myofibrilles. Arch. f. Zellf. IV.

—— 1912. Plastosomen »Apparato reticolare interno« und Chromidialapparat. Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungsgeschichte. XX. Bd. II. Heft.

Duesberg, J. 1913. Plastosomes, Apparato reticolare interno et Chromidialapparat. An. Anz. XLIV. Bd. Nr. 14.

Fauré-Fremiet, 1910. La continuité des mitochondries à travers les générations cellulaires et le rôle de ces éléments. An. Anz. XXXVI.

—— Mayer et Schaeffer. 1909. Sur la constitution et le rôle des mitochondries. Compt. rendus Soc.-Biol. T. LXVI.

Fol, H. 1883. Sur l'origine des cellules du follicule et de l'ovule chez les Ascidien. C. R. Acad. des Sciennces.

Giglio-Tos, E. 1908. I mitocondrii nelle cellule sessuali maschili di Pamphagus marmoratus. Biologica II., 4.

Goldschmidt, R., Popof, M. 1907. Die Karyokinese der Prozotoen und der Chromidialapparat der Protozoen und Metazoenzellen. Arch. f. Protistenkunde. VIII. S. 321.

Haecker, V. 1892. Das Keimbläschen, seine Elemente und Lageveränderungen. Arch. f. Mikr. An. XLI.

—— 1893. Id. II. Über die Funktion des Hauptnucleolus und über das Ansteigen des Keimbläschens.

Heidenhain, M. 1900. Über die Centralkapseln und Pseudochromosomen in den Samenzellen von Proteus usw. Anat. Anz. XVIII. S. 513.

Henneguy, L. 1893. Le corps vitellin de Balbiani dans l'oeuf des Vertebrés. Journal d'Anat. et de Physiologie. Nr. I.

Henschen, Folke. 1903. Zur Struktur der Eizelle gewisser Crustaceen und Gastropoden. An. Anz. Bd. XXIV.

Hirschler, J. 1913. Über die Plasmastrukturen (Mitocondrien, Golgischer Apparat u. a.) in den Geschlechtszellen der Ascariden. Arch. f. Zellf. Bd. IX. Hft. 3.

d'Hollander, J. 1904. Recherches sur l'oogénèse et sur la structure et la signification du noyau de Balbiani chez les oiseaux. Arch. de Microsc. VII.

—— 1902. Le noyau vitellin de Balbiani et les pseudochromosomes chez les oiseaux. Verh. An. Ges. S. 168.

Holmgren, E. 1900. Von den Ovocyten der Katze. Anat. Anz. XVIII. Bd.

Hoven, H. 1911. Du rôle du chondriome dans l'élaboration des grains de sécrétion dans la glande mammaire. An. Anz. XXXIX. S. 321.

—— 1912. Contribution à l'étude du fonctionnement des cellules glandulaires. Du rôle du chondriome dans la sécrétion. Arch. f. Zellf. VIII. Bd. IV. Hft.

—— 1910. Sur l'histologie du système nerveux périphérique chez le Poulet et sur le rôle des chondriosomes dans la neurofibrillation. Arch. de Biol. XXV.

—— 1910. Contribution à l'étude du fonctionnement des cellules glandulaires. Du role du chondriome dans la sécrétion. Anat. Anz. XXXVII.

Lams, H. 1910. Recherches sur l'oeuf de Cobaye (Cavia cobaya) Maturation, fécondation, segmentation. C. R. Ass. Anat. Bruxelles.

—— 1906. Le corps vitellin de Balbiani et la masse vitellogène dans l'oocyte de Rana temporaria. Verh. An. Gesellsch. Rostock i. M.

—— 1904. Contribution à l'étude de la génèse du vitellus dans l'ovule des téléostéens. Arch. d'Anat. micr. VI.

—— 1907. Contribution à l'étude de la génèse du vitellus dans l'ovule des Amphibiens (Rana temporaria). Arch. d'An. Microsc. IX. Fasc. III.

Lams, H.—Doorme, J. 1908. Nouvelles recherches sur la maturation et la fécondation de l'oeuf des mammifères. Arch. de Biologie. T. XXIII.

LEVI, G. 1912. I condriosomi nelle cellule secernenti. Nota preli. An. Anz. XLII. Bd.

—— 1911. Sulla pretesa partecipazione dei condriosomi alla differenziazione cellulare. Arch. d'An. e d'Embriol. Vol. X.

—— 1912. I condriosomi dei gonociti. Mon. Zool. Ital. Vol. XXIII. S. 116.

—— 1912. I condriosomi nell' oocite degli Anfibi. Mon. Zoolog. Ital. Vol. XXIII. S. 149.

—— 1913. Note citologiche sulle cellule somatiche dell' ovario dei Mammiferi. Arch. f. Zellforsch. Bd. XI, Heft 4.

LEYDIG, FR. 1888. Citato da Mertens (1893) e da v. Bambeke (1895).

LOEWENTHAL. 1908. Drüsenstudien III. Die Unterkieferdrüse des Igels und der weißen Ratte. Arch. für Mikr. Anat. LXXI. Bd.

LUNA, E. 1912. Sulla importanza dei condriosomi nella genesi delle miofibrille.

—— 1913. Lo sviluppo dei plastosomi negli anfibi. Arch. für Zellf. XI. 4.

—— 1913. Ricerche sulla biologia dei condriosomi. Arch. f. Zellforsch. X. Bd. 3. Hft.

—— 1912. L'apparato mitocondriale nelle cellule dell' epitelio pigmentato della retina. Arch. f. Zellf. IX. Bd. 1. Hft.

MAZIARSKI, ST. 1910. Sur les changements morphologiques de la structure nucléaire dans les cellules glandulaires etc. Arch. f. Zellf. Bd. IV.

—— 1911. Recherches cytologiques sur les phénomènes sécrétoires dans les glandes filières des larves des lépidoptères. Arch. f. Zellf. VI.

MERTENS, H. 1893. Recherches sur la signification du corps vitellin de Balbiani dans l'ovule des Mammifères et des Oiseaux. Arch. de Biologie. XIII.

MEVES, FR. 1907. Über Mitochondrien bzw. Chondriokonten in den Zellen junger Embrionen. An. Anz. XXXI.

—— 1900. Über den von La Valette Saint-George entdeckten Nebenkern (Mitochondrienkörper) der Samenzellen. Arch. für Mikr. An. LVI. Bd.

—— 1908. Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen usw. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXII.

MISLAWSKY, N. 1913. Über das Chondriom der Pancreaszellen. Arch. f. mikr. An. LXXXI.

—— 1911. Beiträge zur Morphologie der Drüsenzelle. An. Anz. XXXIX.

MONTEROSSO, B. 1912. Sulla struttura e la funzione delle cellule parietali della granulosa nel follicolo ovarico del Maiale. — Atti Acc. Gioenia di Catania. Vol. V. Serie 5a.

—— 1914. Ulteriori ricerche sulla granulosa del follicolo ovarico nei Mammiferi (Cagna). Archiv für Zellforschung, Bd. XII, 2.

PACAUT et VIGIER. 1905. Notes citologiques sur les glandes salivaires d'Helix pomatia: I. Formations chromophiles (ergastoplasme, chondriomites). Verh. Anat. Gesellsch.

PENSA, A. 1912. Osservazioni di morfologia e biologia cellulare nei vegetali (Mitocondri, cloroplasti). Arch. f. Zellforsch. VIII. Bd. 4. Hft.

—— 1913. A propos d'une publication de J. Duesberg »Plastosomen etc.«. An. Anz. 43. Bd. Nr. 23—24.

PERRONCITO, A. 1910. Contributo allo studio della Biologia cellulare. Acc. Lincei.

POPOFF METH. 1907. Eibildung bei Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.

Regaud. 1908. Sur les mithocondries de l'épithelium séminal. Compt. Rend. Soc. Biol. T. LXV.

Regaud, Cl. 1909. Participation du chondriome à la formation des grains de ségrégation dans les cellules des tubes contournés du rein. Comptes Rendus de la Soc. de Biol. Paris.

Regaud, Cl. et Policard, A. 1901. Notes histologiques sur l'ovaire des Mammifères. Ass. des Anat. 1901.

—— 1901. Sécrétion par les cellules folliculeuses d'un produit particulier et accumulation de ce produit dans le protoplasme de l'ovule chez le Chien. Comptes Rend. Soc. Biol. Paris.

Retzius, G. 1910. Über den Bau des Eies der Echinodermen im unbefruchteten und befruchteten Zustand. Biol. Unters. Neue Folge. Bd. XV. Nr. 1. Stockholm.

Roule. 1883. La structure de l'ovaire et la formation des oeufs chez les Phallusiadées. Comptes Rendus Acc. des Sciences.

Rubaskin, W. 1905. Über die Reifungs- und Befruchtungsprozesse des Meerschweincheneies. An. Hefte. XXIX. Bd. 3. Hft.

Russo, A. 1910. Su l'accelerazione dei processi anabolici nell'ovaia delle Coniglie tenute in digiuno e sul suo valore biologico. Atti Acc. Gioenia Sc. Natli. in Catania. Serie V. Vol. 3.

—— 1908. Sulla origine e sulla funzione dell' apparato mitocondriale nelle cellule sessuali dei Mammiferi. Boll. Acc. Gioenia. Serie II. Fasc. 2.

—— 1912. Aumento dei granuli protoplasmatici nell' oocite delle Coniglie iniettate con Lecitina, loro diminuzione nelle Coniglie digiunti e loro natura lipoide e mitocondriale. Arch. f. Zellforsch. VIII. Bd. 2 Hefte.

—— 1909. I mitocondrii ed i globuli vitellini dell' oocite di Coniglia allo stato normale ed in condizioni sperimentali. Contributo allo sviluppo del deutoplasma ed alla differenziazione sessuale delle ova dei Mammiferi. (Nota 1a). Atti Acc. Gioenia Sc. Nat. in Catania. Vol. II. Seria 5a.

—— 1910. Sui mutamenti che subiscono i mitocondrii ed i materiali deutoplasmici dell' oocite di Coniglia in diversi periodi di inanizione. Arch. für Zellforsch. V. Bd. II. Hft.

—— 1907. Sull' origine dei mitocondrii e sulla formazione del deutoplasma nell' oocite di alcuni Mammiferi. Rend. Acc. Lincei. T. XVI.

Scharff, R. 1887. On the ovarian egg of some osseus fisches. Quart. Journ. Micr. Sc. Vol. 28.

Schultze, O. 1911. Über die Genese der Granula in den Drüsenzellen. An. Anz. XXXVIII. Bd.

Sjövall, E. 1906. Ein Versuch das Binnennetz von Golgi-Kopsch bei der Spermato- und Oogenese zu homologisieren. An. Anz. XXVIII.

Sobotta, J., Burkard, G. 1910. Reifung und Befruchtung des Eies der weißen Ratte. Anat. Hefte. 1. Abt. 127 Hft.

Terni, T. 1914. Condriosoma, idiozoma e formazioni periidiozomiche nella spermatogenesi degli Anfibi. Arch. für Zellforsch. XII.

Todaro, F. Sopra lo sviluppo della Seps chalcides. Ricerche Lab. Anat. R. Univers. Roma. Vol. III.

van der Stricht, O. 1905. La structure de l'oeuf des Mammifères 2e partie. Structure de l'oeuf ovarique de la Femme. Bull. de l'Acad. royale de Belgique.

van der Stricht, O. 1909. La structure de l'oeuf des Mammifères (Chauve-souris) 3e partie. L'oocyte à la fin du stade d'accroissement, au stade de la maturation, au stade de la fécondation et au début de la segmentation. Mém. de l'Acad. Royale de Belgique.
—— 1904. La couche vitellogène et les mitochondries de l'oeuf des Mammifères. Verh. An. Gesellsch. Jena.
—— 1905. La structure de l'oeuf des Mammifères. 1re partie. l'oocyte au stade d'accroissement. Arch. de Biolog. T. XXI.
—— 1905. La structure de l'oeuf de chauves souris (Vespertilio noctula). Comptes Rendus Assoc. Anat. Genève.
—— 1908. La structure de l'oeuf de Chienne et la génèse du corps jaune. C. R. Ass. des Anat. Marseille.
van der Stricht, R. 1908. Vitellogénèse dans l'ovule de Chatte. Ann. de la Soc. de Méd. de Gand. T. LXXXVIII.
—— 1911. Vitellogénèse dans l'ovule de la Chatte. Arch. de Biolog. T. XXVI.
von Wielowicjski. 1885. Zur Kenntnis der Eierbildung der Feuerwanze. Zool. Anz. Nr. 198.
Will, L. 1884. Über die Entstehung des Dotter und der Epithelzellen bei den Amphibien und Insekten. Zool. Anz. VII. Bd.
v. Winiwarter, H. 1900. Recherches sur l'oogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des Mammifères (Lapin et Homme). Arch. de Biol. XVII.

Spiegazione delle tavole XXXV—XXXVI.

Tavola XXXV.

Fig. 1, 2, 3. Follicoli primordiali di Cagna adulta; i »pseudocromosomi«, sparsi quasi uniformemente in fig. 1, sono specialmente concentrati in un polo, nelle fig. 2 e 3. La struttura di essi in generale è microsomica. Fissazione in liquido Maximow, colorazione con Ematossilina Ferrica. Microscopio Koristka: oc. 4: obbiettivo semiapocrom. immers. omogenea 1 : 15, tubo evaginato. Proiezione a livello del tavolino del microscopio.

Fig. 4. Follicolo in uno stadio di sviluppo più avanzato dei precendenti. Il gomitolo di »pseudocromosomi« ridotto in un polo, comincia a spezzettarsi; appariscono i primi granuli mitocondriali. Preparazione e ingrandimento come sopra.

Fig. 5. Follicolo giovane con nuclei della granulosa disposti su due linee. Il gomitolo di »pseudocromosomi« ha dato luogo a un ammasso di fini granuli disposto a un polo. Prep. e ingr. c. s.

Fig. 6. Follicolo giovane. Il condrioma si trova sparso in una zona perinucleare. Prep. e ingr. c. s.

Fig. 7. Sezione di un follicolo più avanzato nello sviluppo. Il Condrioma manca, sostituito dai vacuoli. Nel protoplasma, corpuscoli d'origine nucleolare. Prep. e ingr. c. s.

Tavola XXXVI.

Fig. 8. Sezione di un ovocite appartenente ad un follicolo con antro bene sviluppato. Il Condrioma riappare perifericamente, sotto forma di una rete a struttura granulare. Prep. e ingr. come sopra.

Fig. 9. Nucleoli ovocitarii, nell' interno dei quali si notano delle sfere, dei granuli, dei corpi irregolari. Prep. e ingr. c. s.

Fig. 10. Nucleo d'un ovocito con nuclei della granulosa disposti su tre linee. Il nucleolo contiene delle sferule. Nello interno del nucleo si trovano sferule simili. Prep. e ingr. c. s.

Fig. 11. Corpuscoli nucleolari in dissoluzione nell' ooplasma. Prep. e ingr. c. s.

Fig. 12. Follicolo primordiale per mostrare il cumulo di granuli grassi, posto in un polo. Fissaz. e colorazione con metodo Ciaccio al Sudan III. Ingrand. come sopra.

Fig. 13. Follicolo un po' meno sviluppato di quello rappresentato nella fig. 7. I granuli grassi sono apparsi nell' ooplasma. Metodo Ciaccio. Ingr. c. s.

Fig. 14. Sezione di ovocito appartenente ad un follicolo con antro bene sviluppato, e corrispondente allo stadio disegnato nella fig. 8. I granuli grassi si sono mutati in gocciole, che infarciscono l'ooplasma, e che col metodo Maximow (fig. 8) sono visibili sotto forma di vacuoli. Metodo Ciaccio. Ingr. c. s.

Fig. 15. Follicolo ovarico giovane per mostrare la quantità di granuli lipoidi osmiofili. Fissazione con metodo Benda, non seguito da ulteriore colorazione. [La formula Benda adottata è stata modificata col privarla dell' acido acetico]. Ocul. 4: obbiett. 6*. Tubo invaginato. Proiezione a livello del tavolino del microscopio.

Fig. 16. Follicolo in uno stadio più avanzato del precedente. I granuli osmiofili sono più numerosi. Fissazione e ingrandimento come sopra.

Fig. 17. Follicolo più sviluppato dei precedenti. Granuli osmiofili numerosissimi, che infarciscono l'ooplasma. Prep. e coloraz. come sopra.

Ricerche sulla fine struttura dell' epidermide umana normale in rapporto alla sua funzione eleidocheratinica.

Nota III. Lo strato lucido e la produzione eleidinica[1]).

Per il

Dott. **Leonardo Martinotti,** aiuto e libero docente.

(Clinica dermatologica della R. Università di Modena. Dirett. Prof. P. Colombini.)

Con tavola XXXVII.

Passato lo strato granuloso ci si presenta una porzione della cute nella quale, per quanto accurati e numerosi siano stati gli studi, più incerte rimangono ancora la nostre conoscenze.

La maggioranza degli autori descrive al di sopra del granuloso uno strato, veduto per la prima volta dal Gauthier, che lo chiamò membrana lucida superficiale, e poi descritto dall' Oehl che gli assegnò il nome di stratum lucidum, e infine dello Schrön il quale emise l'ipotesi che fosse un prodotto di secrezione delle glandole sudoripare.

Dutrochet lo aveva considerato come facente parte del corneo e Unna gli assegnò il nome di corneo basale.

Si descrive questo strato come una listerella sottile, d'aspetto chiaro, lucente (donde il nome), a bordi paralleli, più o meno stretta a seconda delle regioni costituita di elementi allungati poligonali, compressi l'uno contro l'altro.

Schrön e Oehl hanno studiato i nuclei delle cellule di questo strato. Essi avrebbero trovato che sono sempre più o meno rigonfi e posseggono talora dei nucleoli. Dopo adeguata macerazione (in glicerina ed acido

[1]) Vedi memorie antecedenti in questo stesso Archivio: I. Il corpo malpighiano e la funzione fibrillare dell' epidermide (XII, p. 457); II. Lo strato granuloso e la funzione cheratoialinica (ibid., XIII, p. 446).

acetico) potrebbero osservarsi nel corpo cellulare striature irregolari, ritenuti di natura cornea o, da altri, considerati come prodotti artificiali.

Secondo Ehrmann, Fick, Darier il nucleo non è più visibile e appare solo in processi patologici.

Mibelli ritiene di consistenza fluida la sostanza che impregna le cellule del lucido e ne descrive un nucleo ridotto.

Branca descrive le cellule dello strato lucido come elementi il cui nucleo, contrariamente a quanto si crede d'ordinario, non è scomparso, ma è semplicemente in via di atrofia; il corpo cellulare è rivestito di uno strato cheratinizzato; non possiede più l'apparecchio filamentoso; le fibrille sono semplicemente compresse alla periferia delle cellule. L'eleidina in grani è scomparsa per dar posto all' eleidina diffusa, che esce in forma di grosse gocce dalle cellule aperte col rasoio. Questa eleidina, in piccola quantità esiste alla palma della mano e alle piante dei piedi nel corneo degli operai.

Unna e Rabl hanno potuto constatare la persistenza di fibrille nel lucido nonchè negli strati superiori.

La maggior parte degli autori poco si è occupata di questa zona, mentre altri, di cui alcuni poco recenti, hanno potuto distinguere in essa particolarità speciali. Per primo lo Schrön descrisse nelle regioni dove la cute è più spessa uno strato posto fra il lucido e il corneo che chiamò strato inferiore dell' epidermide cornea, ritenendolo una zona di elementi più giovani.

Più tardi Ranvier ed Unna notarono che al di sopra del granuloso possono trovarsi altri strati[1]), che alla maggior parte degli studiosi sono passati in seguito inosservati.

Ranvier nel 1888 tra il granuloso e il lucido descrisse uno strato intermedio che oggi è accettato dalla maggior parte degli autori francesi, particolarmente da Branca e da Darier. Esso avrebbe la forma di una sottile listerella, fatta da 1 a 3 ordini di elementi, il cui limite inferiore è frastagliato, quello superiore rettilineo o quasi; resiste parzialmente alla digestione, ossia è incompletamente cheratinizzato. Le sue reazioni ricordano quelle del lucido, ma esso se ne differenzia specialmente perchè dopo l'azione dell' acido osmico e del picrocarminio, si colora in rosso vivo, mentre il lucido non si colora. Entrambi non riducono l'acido osmico (quindi, secondo Ranvier, non contengono grasso). Lo strato intermedio per di più in pezzi fissati in alcool non si colora colla tionina, e in quelli

1) Naturalmente, come per la maggior parte degli studi istologici di indole generale essi sono stati fatti con cute delle regioni palmare e plantare.

fissati in Flemming è refrattario alla purpurina che colora in rosa tutto il rimanente.

Sarebbe a livello di esso che comincerebbe il fenomeno di cheratinizzazione della membrana pericellulare, nonchè la formazione del grasso epidermico e della cheratina in genere (Darier).

Unna nel 1889 incorporò il lucido allo strato corneo, del quale distinse i seguenti strati:

1° Uno strato corneo superficiale o delimitante.

2° Uno strato corneo medio.

3° Uno strato superbasale.

4° Uno strato basale, suddiviso a sua volta in due sottostrati:

a) strato basale pr. detto.

b) strato infrabasale.

Tale classifica si fonda sopratutto sull' azione del picrocarminio e dell' acido osmico che è ridotto a livello del superbasale, mentre l'infrabasale è chiaro.

Ranvier combattè dapprima la divisione di unna specialmente perchè fatta in base alla riduzione dell' acido osmico, che, secondo Ranvier, è in rapporto più che altro, collo spessore del corneo e colla poca penetrabilità del reattivo. Unna dal canto suo rimproverò a Ranvier di aver erroneamente confuso il suo strato infrabasale col lucido di Oehl, e al Mibelli di aver confuso e preso complessivamente il basale col soprabasale.

In realtà il Ranvier nel distinguere la strato intermedium dal lucidum, veniva ad isolare lo strato corrispondente a quello infrabasale di Unna[1]); e d'altra parte poi i caratteri che l'Unna ha dato di tali zone sono stati sempre piuttosto incerti e mal definiti. Difatti, là dove la cute è più spessa, le zone distinte da Ranvier e da Unna esistono, ma su di esse coloro che se ne sono occupati, hanno avuto idee molto disparate.

E se si confrontano tali strati con quelli che mediante nuovi metodi di colorazione io ho potuto dimostrare ed ho già descritto nelle mie comunicazioni preventive appare evidente che le zone descritte da Oehl, Ranvier, da Unna, e da me osservate, si corrispondono. Più precisamente:

a) lo strato intermedio di Ranvier o strato infrabasale di Unna, corrisponde a quello da me descritto col nome di eleidinogeno o preeleidinico.

b) lo strato basale di Unna corrisponde all' eleidinico.

c) lo strato inferiore dell' epidermide cornea di Oehl o strato super-

---

[1]) E Ranvier stesso più tardi (1899) riconobbe tale identità.

basale di Unna corrisponde al cheratinogeno o precheratinico, o posteleidinico.

Non starò a discutere sulla nomenclatura: farò solo rilevare che io li ho così denominati perchè esse rappresentano zone di transizione situate fra il granuloso e il lucido e fra questo e il corneo, quindi le denominazioni rispettive di strati eleidinogeno e cheratinogeno, o risp. preeleidinico e precheratinico corrispondono alla loro funzione e alla loro sede, e sono più atte a evitare confusioni ed errori di interpretazione.

Come ho già detto, accettando le idee di Unna, io riservo la denominazione di eleidina alla sostanza propria dello strato lucido.

Anche Weidenreich ha descritto nel corneo numerose zone, ma la classificazione e la nomenclatura da lui proposte non sembrano del tutto giustificate. Avendo osservato nel corneo particolari formazioni che vedremo a proposito delle topografia della eleidina e della cheratina (e che altro non sono se non zone di eleidina che si possono trovare in seno al corneo) si è basato su di esse per fare diversi strati. Difatti egli distingue:

a) Una pars arcuata (corrispondente agli archi che separano i solchi interpapillari),

b) una pars implicita (corrispondente ai solchi interpapillari).

Per ciascuno di questi archi egli distingue:

a) Uno stratum lucidum (Oehl) = strato basale (Unna) = stratum tensum profundum (Weidenreich).

b) Uno stratum relaxatum (corrispondente allo strato medium di Unna) (che manca secondo W. nella pars implicita).

c) Uno stratum tensum (pr. detto o tensum superficiale).

d) Uno stratum disiunctum (Ranvier) o strato superficiale (Unna).

Ora basta guardare la figura annessa al lavoro di Weidenreich (fig. 9) per convincersi che nel suo strato lucido non fa distinzione fra strato infrabasale o eleidinogeno e, basale o eleidinico, e superbasale o cheratinogeno. Omesse queste parti (che veramente sono microchimicamente differenti e costanti, e su cui si fermò l'attenzione di Unna) distingue un doppio str. tensum, che in realtà è dato sempre da sostanza eleidinica e uno str. relaxatum e uno str. disiunctum, che sono tutti e due fatti di cheratina.

Di quale origine sia l'eleidina e quale relazione generica essa abbia colla evoluzione ulteriore della cheratojalina è poco noto e molto discusso.

Rabl ammette che per confluenza e fusione delle gocce di cheratoialina abbia luogo la costituzione di olio grasso (che egli chiama cherato-

eleidina) che riempie completamente il corpo cellulare e diventa fortemente lucente e va così a costituire la strato lucido.

Ranvier pure fa provenire la eleidina diffusa del lucido da fluidificazione delle gocce di eleidina (coiè cheratojalina) del granuloso.

Buzzi esprime un concetto analogo e fa per di più rilevare come fra eleidina e cheratojalina vi siano al tempo stesso affinità e differenze tintoriali. Egli avrebbe veduto che le variazioni quantitative di una delle due, vanno di pari passo coi mutamenti dell' altra.

Dreysel e Oppler, pur riconoscendo un rapporto genetico reciproco tra le due sostanze trovano in taluni casi variazioni indipendenti dell' una o dell' altra.

Jarisch ritiene dubbia un' origine dell' eleidina dalla cheratojalina.

Unna considera la cheratojalina come un prodotto concomitante accessorio, e crede non si possano stabilire decisamente rapporti genetici tra essa e la eleidina. Egli fa notare come lo strato corneo presenti caratteri assolutamente simili tanto in processi patologici (come il lichen) dove l'eleidina abbonda, quanto in altri (ad es. paracheratosi) dove essa manca.

*
* *

Per lo studio dell' eleidina Dreysel e Oppler fissano in alcool; Buzzi riscontra l'eleidina anche in pezzi che hanno soggiornato per anni in alcool; Frickenhaus si mostra scettico sulla supposta azione deleteria dell' alcool temuta da Ranvier (in base al concetto che l'eleidina fosse di natura grassa). Ciliano avendo in base alle sue ricerche stabilita unna natura albuminosa dell' eleidina e determinata la sua solubilità in acqua, pone in guardia contro l'azione prolungata dei fissativi acquosi, e attribuisce l'azione deleteria dell' alcool non all' alcool stesso ma al contenuto in acqua del liquido più o meno idroalcoolico.

Buzzi raccomanda come mezzi di colorazione sopratutto il rosso Congo, l'indofenolo, l'orceina, l'Orseilleextract, e la tint. di Alkanna.

Grosse provò diversi liquidi fissativi e trovò che il liquido di Müller altera l'eleidina, il sublimato e la formalina ne producono una diminuzione. Notò che esistevano differenze tra la cheratojalina che può osservarsi su sezioni fresche e quella che si mette in evidenza coi vari reattivi.

Ranvier raccomandò il picrocarminio, Frickenhaus preconizzò il wasserblau, l'alkaliblau; Dreysel e Oppler una particolare formola di picrocarminio; Weidenreich trovò ottimi specialmente il Wasserblau e il rosso Congo, già raccomandato da Buzzi.

Secondo i risultati delle mie ricerche il miglior metodo di studio per questa parte dell' organo epidermico è quello di fissare in formolo, sezionare al congelatore, colorare le sezioni libere.

Molti degli altri fissativi non sono adatti. I liquidi di Helly, Zenker, v. Gehuchten, Mingazzini, e quelli che contengono sublimato in genere, il fissativo di Perényi, sono poco idonei a tali studi. I liquidi che contengono acido osmico, per la stessa tendenza di questa sostanza a ridursi in presenza di particolari elementi contenuti nel lucido servono solo per speciali indagini, sulle quali mi tratterrò più avanti.

Immagini discrete si ottengono col liquido di Orth, con quelli di Bouin, di Maximow, coll' alcool a 80° col liquido di Mann, con il bicromato acetico.

Nessuno di tutti questi fissativi equivale però al formolo.

Le sezioni appiccicate al vetro servono male: per i fenomeni di distensione e successiva retrazione che si verificano con tale manipolazione, lo strato lucido, più delicato delle altre parti dell' epidermide, non resiste e i suoi elementi si retraggono, si staccano, si allontanano gli uni dagli altri, lasciando spazi vuoti che dimostrano chiaramente come esso si retragga molte volte fino della metà dello spazio primitivo.

Il miglior metodo quindi è finora dato dalle sezioni libere di pezzi fissati in formolo, sezionati al congelatore o dopo inclusione mediante il benzolo in paraffina. Sopra queste sezioni facendo agire un numero rilevante di colori ho potuto constatare alcune affinità tintoriali che ho già enunciato nella mia prima memoria, e che in breve riassumo.

1° Esistono sostanze coloranti che non hanno nessuna affinità per lo strato che vien dopo a quello granuloso, cioè per il lucido e specialmente per la sua parte mediana. Con esse si vede interrompersi bruscamente la colorazione dell' epidermide a livello delle cellule cheratojaliniche più esterne; ad un esame superficiale sembra quasi che qui cessi ogni struttura organica e non esista più alcun elemento. Se le sostanze usate hanno affinità per il corneo si vede, passato lo strato suddetto, riapparire la struttura dell' epidermide.

Ricorderò fra queste sostanze: il Verde Giano, il Bleu Giano, il Rosso Giano, l'Indoina, la Tropaolin I, il Ponceau 2R, la Brillantcrocein 3BX, la Brillantcrocein 00, il Naphtalinsäureschwarz, il Wollschwarz, il Diaminogenschwarz, il Rosso Congo, la Benzopurpurin, il Diaminviolett, il Diaminrot 4 B, il Diaminechtrot, il Diaminbrillantblau G, l'Oxydiaminschwarz,

l'Azoviolett, il Brillantcongo R, la Deltapurpurin, l'Azoblau, il Diaminblau 2 R, il Dianilblau (marche B, G, 2 R), il Verde Malachite, i violetti di rosanilina in genere (quindi il metilvioletto, il cristalvioletto, l'etilvioletto, la Dahlia, i violetti acidi, ecc. ecc.), le fenilrosaniline (ossia l'azzurro di anilina solubile in acqua e in alcool, il bleu di metile, il wasserblau ecc. ecc.), il Nachtblau, la Coerulein S, finalmente le tiazine, le osazine, le azine in genere, nonchè il nero di anilina, la tintura di Alkanna.

2°) Vi sono sostanze che colorano elettivamente il lucido. Tra queste alcune hanno affinità non solo elettiva ma esclusiva per modo che nessun'altra parte della cute rimane colorata. Vi appartengono l'Eliantina (Metilorange, Goldorange), il Ceratinorange, la Crisoidina, il Bruno di Vesuvina, l'Orange G, il Ponceau 2 G, il Ponceau 3 R, la Coccinina, il Kristallponceau, la Neucoccin, lo Zinnoberscharlach, il Chromotrop 2 R, il Victoriaviolett, la Croceinscharlach, l'Echtscharlach, il Blauschwarz B, la Benzoazzurrina, il Benzoechtscharlach, la Naphtazurina, l'Alizarin S, Naphtolrot, il Verde di metile, la Fucsina acida, le ftaleine in genere (eosina, fluoresceina, crisolina ecc.), le succineine in genere (specialmente la Rhodamin B), il bleu di fenilene, il Neutralblau, il Toluilenblau, l'Alizarincyanin, l'Alizarinbordeaux, l'Erika, il giallo Clayton, la Rosindulin. Fra tutti questi colori i più importanti sono:

Galleina[1])	Lucido violetto.
Azokarmin	Lucido rosso.
Victoriaviolett	Lucido violetto
Rhodamin B[2])	Lucido rosso ciliegio
Phenylenblau[3])	Lucido bleu violaceo
Indigocarminio[4])	Lucido azzurro
Azofuchsin	Lucido rosso vivo
Chromotrop 2 R	Lucido rosso vivo
Naphtylaminrot	Lucido rosso roseo
Rosso Rutenio[5])	Lucido rosso roseo.

3°) Alcune sostanze coloranti mostrano la tendenza a dare una metacromasia più o meno spiccata dell' eleidina; ad es., il

[1]) In soluzione acquosa satura di carbonato di litio.

[2]) La Rhodamin B è fra tutte le rodamine quella che meglio si presta alla coloraz. del lucido.

[3]) Si decolora con facilità.

[4]) Si può aumentarne l'intensità colorante aggiungendo una traccia di acido acetico.

[5]) Si colora colla soluzione diluitissima per 24 ore.

Blauschwarz B[1]) (cheratojalina bruna, eleidina rossiccia, str. spinoso azzurro), il Benzoechtscharlach (giallo paglia), la Purpurina (gialla), la Galleina acquosa semplice (rossiccio), la Muresside (giallo), la Nitroalizarina (rosso), il violetto ametista (violetto), il Palatinschwarz B (corneo azzuro, eleidina gialla), la Rosanilinbase acetonica (differenziando con acido picrico: violetta), la Resorufin (azzurro; rimanente bruno), il Saurebraun (giallastro, cheratojalina e corneo bruno); l'Echtneutralviolett (rosso).

Tali reazioni metacromatiche sono però oltremodo inconstanti e variabili.

4°) Fra le sostanze che mostrano affinità per lo strato lucido ve ne sono di quelle che sembrano avere una speciale predilezione per uno strato fatto di uno o al massimo due file di elementi che sono posti fra il cheratojalinico e la parte centrale del lucido, nonchè per tre o quattro file di cellule che sono situate fra questa e il corneo propriamente detto.

Ho chiamato queste due zone strati limitanti del lucido e precisamente il primo strato preeleidinico o eleidinogeno e il secondo posteleidinico o precheratinico o cheratinogeno.

Appartengono a questa categoria molte delle sostanze che hanno affinità per il corneo (ad esempio Rosso Congo, Dianilblau, Croceinscharlach), o per il lucido (ad esempio, Ponceau, Crisoidina, Eosina, Pironina ecc.) e inoltre lo Tropecolin 000, l'Echtrot, il Ponceau 2 R, la Crocein 3BX, la Brillantcrocein, la Croceinscharlach, il Biebricher Patentschwarz 4NA e BO, il Wollschwarz, il Diaminogenschwarz, il Rosso Congo, la Benzoazzurin, il Congocorinth G, il Brillantcongo R, il Diaminblau 2B, il Diaminreinblau, il Dianilblau (marche B, G, 2R), il Bleu di Alizarina, la Primulin, il Verde Malachite, le fenilrosaniline in genere (azzurri di anilina), le pironine, le ftaleine (sopratutto le eosine), le azine, (Rosso neutro, Violetto neutro, Fenosafranina, Tolusafranina, Giroflé, Fuchsia, Indazina ecc. ecc.).

Per lo studio di questi due strati che sono ancora assai poco noti servono precipuamente bene: le Eosine, l'Echtrot, la Monofenilrosanilina, l'Antracenchromschwarz, il Victoriablau B, l'Orseillextract ecc. Va notato a questo punto il fatto che quasi tutte le sostanze che sono reattivi importanti del lucido, possono in determinate condizioni tingere solamente gli strati limitanti di esso: la Rhodamin B ad es., in soluzione acquosa colora tutto il lucido e i linitanti, in soluzione alcoolica, tinge solo questi

[1]) Un accenno si ha anche col Brillantschwarz.

ultimi[1]). Numerose colorazioni combinate che vedremo, sono specialmente adatte all' uopo.

5°) Esistono sostanze che tingono in maniera molto intensa lo strato cheratojalinico, lasciano incoloro il lucido e tingono poi il cheratinogeno nella stessa maniera del granuloso.

Tali sono il Diaminreinblau (azzurro), il Diaminblau 2B (bleu cupo), il Thiazinrot (rosso), il Trypanrot (rosso), l'Orseille extract alcoolico saturo (rosso), la Coccinina (rosso), il Wollschwarz specialmente in soluzione alcoolica (bruno), il Brillantschwarz (bleu bruniccio), il Naphtolschwarz (azzurro), l'Orseillin BB, l'Anthracenchromschwarz ecc.

Fra questo gruppo e il precedente è difficile stabilire una differenziazione netta: in linea generale i colori elettivi dei limitanti del lucido sono prevalentemente acidi (prototipo eosina), quelli del cheratinogeno e della cheratojalina, prevalentemente basici e che per di più hanno una certa affinità per le fibrille epidermiche e le fibre elastiche.

In realtà però la cheratojalina può esser tinta anche da colori prevalentemente acidi e d'altra parte le sostanze del 5° gruppo molte volte tingono la sostanza eleidinogena, e quelli del 4° dal canto loro possono colorare anche la cheratojalina. I due gruppi quindi possono fondersi assieme. Questa relativa incostanza di risultati (che è poi molto spiccata nel gruppo 6°), è in rapporto col pezzo, coll' alcalinità o la basicità del fissativo, molte volte col diverso campione della stessa sostanza colorante. Come ho già detto poi i colori elettivi del lucido possono in taluni casi diventare elettivi dei limitanti[2]).

6°) Vi è un piccolissimo gruppo di sostanze che ha la proprietà di dare reazioni metacromatiche spesso incostanti ma molto eleganti per cui la cheratojalina, l'eleidina e le sostanze eleidinogene e cheratinogene sono differentemente colorate. Esse sono utili per studiare l'ulteriore evoluzione della cheratojalina, in eleidina, in cheratina; nella tabella seguente ho riunito le più importanti:

---

[1]) Con ciò si spieghino le apparenti contraddizioni per cui uno stesso colore risulta appartenere a diverse categorie e sembra avere affinità quasi opposte.

[2]) Per non citare che un esempio, oltre la Rhodamin B che come ho detto, colora il lucido se in soluzione acquosa, i limitanti se alcoolica, il Saurealizarinschwarz S. E. su sezioni fatte al congelatore colora la cheratojalina in verde, l'eleidina in rossiccio, i limitanti in violetto; su quelle ottenute da pezzi inclusi la cheratojalina è rossiccia, l'eleidina violetta, i limitanti azzurri.

Sostanze coloranti	Cheratojalina	Eleidina	Str. limitanti	Cheratina
Palatinchromblau	azzurro violaceo	rossiccio	azzurro	azzurro o incoloro
Biebricher Patentschwarz AN	bruno	azzurro chiaro	azurro cupo	rosso brunicccio
Biebricher Patentschwarz BO	azzurro cupo	azzurro brunicccio	azurro	azzurro
Diamantschwarz	bruno	rossiccio	rosso bruno	bruno
Saurealizarinschwarz B	verde	rossiccio	bleu violaceo	azzurro
Benzoechtscharlach	rosso ciliegia	giallo	aranciato	aranciato

Combinando in varie maniere le diverse sostanze coloranti, si ottengono metodi (che possono moltiplicarsi quasi all' infinito) i quali permettono di fare uno studio accurato dello strato lucido complessivamente e delle varie porzioni che lo costituiscono.

Per tale scopo, come ho detto, è necessario servirsi di sezioni libere fatte al congelàtore su pezzi fissati in formolo. L'inclusione può tutt' al più farsi in paraffina mediante il benzolo o il cloroformio. Non è possibile servirsi di sezioni appiccicate al vetro perchè le affinità di molte sostanze coloranti si perdono e d'altra parte le retrazioni che subisce la sezione impediscono un accurato studio della parte.

A. Metodi per lo studio del lucido complessivamente.

I. Metodo al Victoriaviolett o all'Indigocarminio.

1. Colorazione dei nuclei in litiocarminio 3′—5′.
2. Differenziamento in alcool cloridrico.
3. Acqua distillata.
4. Colorazione del lucido con soluzione acquosa di Victoriaviolett 1% per 3′—5′ oppure, con soluzione acquosa satura (1 : 60—70) di Indigocarminio 5′—10′.
5. Lavaggio in acqua distillata.
6. Alcool assoluto — Benzolo — Xilolo — Balsamo.

I nuclei sono rossi; il lucido è azzurro (indigocarminio) o violetto (Victoriaviolett); col Victoriaviolett la cheratojalina è tinta in azzurro cupo.

II. Metodo alla Rhodamin B, o all'Azofuchsin ecc.

1. Colorazione dei nuclei con ematossilina ferrica 2′—3′.
2. Differenziamento in alcool cloridrico, previo lavaggio in acqua.
3. Acqua di fonte.

4. Colorazione del lucido con soluzione acquosa all' 1% di Rhodamin B, (3′—5′), oppure di Azofuchsin (5′—10′), o di Neucoccin (5′—10′) o di Naphtylaminrot (5′—10′), o di Chromotrop 2′ -R (5′—10′).
5. Lavaggio in acqua.
6. Alcool assoluto — Benzolo — Xilolo — Balsamo.

I nuclei sono tinti in violetto brunastro; il lucido è rosso ciliegia (Rodamin B) o rosso vivo (Azofuchsin, Chromotrop 2 R, Naphtylaminrot), o rosso (Neucoccin).

Metodi di questo genere se ne possono dare finchè si vuole, basta pensare al numero non indifferente di sostanze che ho ricordato e che hanno affinità per lo strato lucido.

Anche con alcuni dei metodi precedentemente dati per la studio delle fibrille e della cheratojalina si hanno ottime dimostrazioni del lucido; come pure coi prodotti di ossidazione che si ottengono trattando colori basici di anilina con percloruro ferrico e resorcina, secondo le indicazioni di Weigert: dà in tal caso ottimi risultati il Victoriablau B.

III. Metodo al Palatinchromblau.

1. Soluzione di Palatinchrombrau in acqua distillata 1% 1—24 ore.
2. Acqua distillata.
3. Soluzione di Bicromato di potassio al 10% 1′—2′ (non di più).
4. Alcool assoluto — Benzolo — Xilolo — Balsamo.

I tessuti in genere sono azzurri: l'eleidina è rosso aranciato, la cheratina bruna. Si colorano anche le fibre elastiche. Il metodo può assurgere al significato di una reazione microchimica, in quantochè, non chiudendo i preparati in balsamo, ma osservandoli in sciroppo di levulosio, si vedono colorati quasi tutti i grassi della cute, dimostrando così l'analogia che corre fra l'eleidina e i grassi.

IV. Metodo alla Fenilendiamina.

1. Soluzione acquosa di Bicromato di K al 10%; 5′—10′.
2. Breve lavaggio in acqua.
3. Soluzione acquosa satura di fresco preparata di cloridrato di fenilendiamina 3′—5′.
4. Acqua distillata.
5. Alcool assoluto — Benzolo — Xilolo — Balsamo.

L'eleidina e i prodotti eleidinici sono elettivamente colorati in aranciato cupo col derivato orto, in giallo bruno con quello meta, e in violetto grigiastro con quello para.

V. Metodo al Solfoalizarinato sodico.

Una importante reazione si ha col Solfoalizarinato sodico. Questa sostanza si colora in rosso porpora cogli alcali e con il carbonato di litio poi da un precipitato di aspetto mucilaginoso dello stesso colore. Colorando prima con una soluzione acquosa all' 1% di Solfoalizarinato sodico per 5′—10′, lavando brevemente in acqua, passando per qualche minuto in soluzione acquosa satura di carbonato di litio, e dopo un brevissimo lavaggio, in alcool, benzolo, balsamo si ha una ottima immagine dell' eleidina colorata in rosso mattone.

Ricorderò da ultimo ie seguenti reazioni.

VI. Coerulein S; H_2O; soluzione acquosa satura di carbonato di litio; H_2O, alcool ecc.

Lucido bruno grigiastro.

VII. Ematossilina ferrica; alcool cloridrico; H_2O; Hessisch purpur alcoolica satura; H_2O; alcool ecc.

Lucido verdastro.

VIII. Ematossilina ferrica; tint. officinale di percloruro di ferro; H_2O, ecc.

Lucido brunastro.

IX. Violetto ametista; H_2O; Eliantina; H_2O, ecc.

Lucido violetto.

X. Ematossilina ferrica; alcool cloridr.; H_2O; Pararot, H_2O, ecc.

Eleidina rossa.

XI. Verde diazina o indoina; H_2O; Neucoccin; H_2O; alcool ecc.

Lucido rosso.

XII. α nitroso — β naftolo; H_2O; nitrato di Cobalto.

Lucido (e cheratojalina) giallo bruno intenso.

B. **Metodi per lo studio delle varie porzioni del lucido.**

Questi metodi risultano naturalmente dalla combinazione dei colori elettivi del lucido con quelli elettivi dei limitanti: teoricamente si dovrebbero potere fare numerosissime combinazioni, in pratica esse si riducono di molto, o per incompatibilità o per azione decolorante reciproca mostrata dalle varie sostanze, per cui non si riesce spesse volte sia a fare le miscele adatte, sia a fare agire successivamente diversi colori.

Esempi di tali impossibilità noi possiamo averli con:

Victoriaviolett + Tiazinrot, oppure Trypanrot, oppure Echtrot.
Chromotrop 2R + Diaminblau 2B, oppure Diaminreinblau.
Azokarmin + Diaminblau 2B, oppure Diaminreinblau.
ecc. ecc.

Per queste ragioni io mi limito a riferire i metodi che mi hanno dato i migliori risultati.

I. Metodo Rosso d'Acridina — Cianina — Picrato NH_4.

1. Colorazione con soluzione di Rosso di acridina in acqua distillata all' 1% 5′.
2. Breve lavaggio in acqua.
3. Colorazione con soluzione di Cianina (Bleu di chinolina) all' 1% in alcool a 95°, 5′.
4. Acqua distillata.
5. Soluzione acquosa satura di picrato di ammonio 30″—60″.
6. Lavaggio in acqua.
7. Alcool assoluto (all' incirca finchè non si perdono più nubecole di colore).
8. Alcool assoluto — Benzolo — Xilolo — Balsamo.

Str., Eleidinico rosso, limitanti azzurri.

Le cellule eleidiniche hanno il corpo cellulare rosso e le membrane azzurre.

I.bis Il metodo può anche eseguirsi così:

1. Acridinrot 5′.
2. Lavaggio in acqua.
3. Controcolorazione per 1′—2′ in Bleu di Chinolina 1% e Auramina alcoolica 1% ana.
4. Lavaggio in acqua.
5. Alcool assoluto — Benzolo — Xilolo — Balsamo.

La differenziazione però allora è meno netta.

II. Metodo Indazina — Echtrot.

1. Colorazione con soluzione acquosa di Indazina all' 1% per 5′—10′.
2. Lavaggio in acqua.
3. Colorazione con soluzione Echtrot in alcool a 95%, all' 1%, 1′—3′.
4. Lavaggio in acqua.
5. Alcool assoluto (differenziamento sotto controllo).
6. Alcool assoluto — Benzolo — Xilolo — Balsamo.

Lucido azzurro; limitanti rossi.

III. Metodo Rhodamin B — Viktoriablau.

1. Colorazione con soluzione acquosa di Rhodamin B 1% 5′—10′.
2. Acqua distillata.
3. Color. con soluz. in alcool a 95° di Victoriablau B o 4R 1% 1′—2′.
4. Acqua distillata.
5. Alcool assoluto — Benzolo — Balsamo.

Eleidina rossa; sostanze eleidinogena e cheratinogena azzurre.

IV. Metodo Monofenilrosanilina — Rhodamin B.

1. Colorazione per 1′—2′ con soluzione satura (0,5—1,0%) in alcool a 95° di monofenilrosanilina (Schuchardt).
2. Lavaggio in acqua.
3. Differenziamento in alcool cloridrico.
4. Lavaggio in acqua.
5. Colorazione per 2′—5′ con soluzione acquosa al 0,5—1% di Rhodamin B.
6. Lavaggio in acqua distillata.
7. Alcool assoluto — Benzolo — Xilolo — Balsamo.

Limitanti azzurro cupo; eleidinico rosso.

V. Metodo Eosina — Galleina.

1. Colorazione con soluzione acquosa di eosina (eosina w. lösl.; metileosina, safrosina) 1%, 5′—10′.
2. Breve lavaggio in acqua.
3. Controcolorazione con soluzione di Galleina all' 1% in acqua satura di carbonato di litio per 2′—3′ (controllare la decolorazione che contemporaneamente avviene dell' eosina per effetto dell' alcali).
4. Breve lavaggio in acqua.
5. Alcool assoluto — Benzolo — Xilolo — Balsamo.

Lucido violetto, limitanti rossi.

VI. Metodo Victoriaviolett — Safrosina.

1. Colorazione con soluzione di Victoriaviolett all' 1% in acqua distillata per 5′.
2. Lavaggio in acqua.
3. Controcolorazione con soluzione di Safrosina all' 1% in alcool a 95° per 3′—5′.
4. Acqua distillata.
5. Alcool assoluto — Benzolo — Xilolo — Balsamo.

Strato eleidinico azzurro; zone eleidinogena e cheratinogena rosso vivo.

Si può far precedere la colorazione colla safrosina. Quando questa è eccessiva si può differenziare in una base (soluz. acquosa satura di picrato di NH_4, di auramina in alcool di carbonato di litio, di alcool con 1% di NH_3, ecc.). Alla Safrosin può sostituirsi la Methyleosin, o, meno acconciamente, la Eosin w. l. nelle sue varie marche.

Come colorante dei limitanti può usarsi invece di un' eosina il Diamantschwarz o meglio l'Orseilleextract, entrambi acquosi 1—2%.

Di tutti i metodi i migliori sono quelli al Victoriaviolett-Safrosin; alla Rhodamin B — Victoriablau; alla Monophenylrosanilin-Rhodamin B, poi vengono i metodi all' eosina-Galleina, all' Indazina-Echtrot, all' Acridinrot-Cyanin. Questo ultimo dà talora immagini elegantissime ma è di uso un po' più difficile. Ottimi a ancora sono i metodi all' Eosina-Aurantia-Indulina, e all' Eosina-Orange G-Anilinblau u. l. che indicherò a proposito della funzione cheratinica, come metodi generali di orientamento.

Colorazioni nucleari con tutti questi metodi sono poco consigliabili: si può volendo usare il litiocarminio, o il carmallume o l'ematossilina ferrica.

Accennerò da ultimo ai seguenti metodi molto meno importanti ma coi quali si possono talora avere risultati discreti. Essi si adoprano tutti facendo agire i vari colori successivamente, come nei mm. antecedenti.

VII. Coerulein S, H_2O. — Tannin-Orange — Cheratojalina, strati eleidinogeno e cheratinogeno bruno verdastro.

VIII. Ematossilina ferrica; alcool cloridrico; Violetto ametista; H_2O; Echtrot alcoolico — Cheratojalina rosso violetta, limitanti rossi, eleidina violetta, nuclei bleu violetti.

IX. Hessischpurpur alcoolica sat.; H_2O; Chrysolin alcoolica sat.; H_2O — Limitanti rosso aranciato.

X. Brillantalizarinblau G. alcoolico 3—6 ore; H_2O; Neucoccin acquosa; H_2O; — Limitanti violetti; eleidina rossa.

XI. Coerulein S; H^1O; Tartrazin; H_2O — limitanti neri, eleidinico giallo.

XII. Prodotto di ossidazione della Mauvein ottenuto portandone la soluzione acquosa (1%) all' ebullizione con vanadato di NH_4 (0,5%); H_2O; Eliantina acquosa (oppure Dinitronaftolo alcoolico); H_2O. — Limitanti violetti.

XIII. Azofuchsin opp. Neucoccin, o Naphtylaminrot, acquosa, H_2O; Antracenchromschwarz; H_2O; — Eleidina rossa; cheratojalina e limitanti azzurri; se in luogo dell' Anthracenchromschwarz si usano il Dianilblau 2 R opp. il Diaminreinblau, si hanno all' incirca gli stessi risultati; per di più si colorano molti elementi del corneo.

Coi procedimenti indicati si può seguire la evoluzione a cui la cellula epiteliale va incontro in corrispondenza del lucido; ad essi bisogna però aggiungere anche il sussidio portato dai metodi precedentemente descritti per le fibrille, la cheratojalina, le membrane cellulari e via dicendo.

Se si esaminano preparati colorati con quelle sostanze che tingono elettivamente la cheratojalina e lo strato cheratinogeno, si trova che giunti al limite più esterno del granuloso, si interrompe la colorazione degli strati cellurari che riappaiono poi dopo aver lasciata una piccola zona incolora. Si ha l'impressione di una brusca sospensione della funzione normale cheratinica. Coi colori che dànno le metacromasie ricordate, si vede invece che ad un tratto le cellule cheratojaliniche cambiano fisionomia; si trasformano in masse amorfe allungate dove più nulla è rilevabile della struttura della cellula epidermica. Si passa così rapidamente dalla zona cheratojalinica a quella assai stretta eleidinogena, a quella più ampia eleidinica, da questa con zone di transizione assai più manifeste allo strato cheratinogeno e infine a quello cheratinico vero e proprio.

Ma se adopriamo i metodi or ora estesamente descritti possiamo studiare le trasformazioni a cui vanno incontro il nucleo, la membrana cellulare, il contenuto citoplasmatico.

Quanto al nucleo, se esso ha preso parte alla costituzione della cheratojalina naturalmente non è più rilevabile.

Se esso è rimasto più o meno integro per tutto o per parte del tempo in cui si è avuta la produzione cheratojalinica stessa, allora subisce delle trasformazioni regressive le quali o si verificano già in parte nelle porzioni più alte del granuloso e si compiono poi a livello dello strato eleidinogeno, oppure si efettuano in maniera molto brusca in corrispondenza di quest'ultimo.

Esse sono sopratutto ben visibili su preparati colorati con azzurro di indamina. Per lo più il nucleo diventa più voluminoso, il contenuto perde a poco a poco la sua sostanza cromatica e si riduce così ad un vacuolo rotondo od ovale, vuoto. Altre volte si raggrinza, si trasforma in un corpiciattolo di forma irregolarmente stellata, contenuto in una areola chiara che mantiene la sua forma regolarmente rotonda. Altre volte ancora si fa picnotico, oppure lascia fuoriuscire il suo contenuto per una specie di deiscenza, e la membrana in seguito si arrotola su se stessa.

In qualunque maniera si verifichi il disfacimento nucleare, gli ultimi suoi avanzi subiscono la stessa sorte dei granuli di cheratojalina, che vedremo fra poco.

Per riguardo a quest' ultima si può seguire bene le trasformazioni da essa subite specialmente su preparati colorati con Tannineliotropo —

ac. picrico oppure con litiocarminio, Indazina, acido picrico; indamina e rosso d'acridina[1]).

Si vede allora che i granuli di cheratojalina si fondono, formano ammassi di mole sempre maggiore e confluiscono a formare la massa endocellulare eleidinica; oppure essa si condensa in blocchi di vario volume che si attaccano alla membrana del nucleo vacuolizzato; si forma così un anello grande che all' interno è ablastanza regolarmente circolare all' esterno mostra blocchi o granulazioni di cheratojalina il cui volume va degradando verso la periferia.

Col metodo al litiocarminio — indazina — ac. picrico si può vedere che quando la cellula dello strato granuloso è piena zeppa di cheratojalina, improvvisamente il nucleo, che dapprima si colorava col litiocarminio, si fa picnotico e assume l'indazina e contemporaneamente il corpo cellulare si colora intensamente e diffusamente colla medesima sostanza, per l'avvenuta fusione delle goccie cheratojaliniche, e l'elemento così trasformato va a costituire la cellula eleidinogena.

Colorando con indamina e poi con rosso d'acridina, col quale metodo si ha una colorazione rossa dello strato eleidinico, si vede come lo strato eleidinogeno sia costituito di elementi provveduti di membrana, in cui il nucleo, che ha assunto un aspetto globoso omogeneo, non si colora più con l'indazina ma col rosso di acridina, che in tale metodo costituisce il reattivo dell' eleidina. Quindi lo strato eleidinogeno è a questo punto caratterizzato dalla colliquazione sia della cheratojalina sia della cromatina nucleare, la quale per di più si è modificata ed ha cambiato affinità colorante; le sue cellule sono ancora nucleate ma i nuclei non si colorano coi soliti colori basici della cromatina, bensì coi reattivi propri dell' eleidina, ossia hanno subito la trasformazione eleidinica al pari della cheratojalina.

In un secondo tempo questa eleidina nucleare si fonde colla eleidina del protoplasma (in massima parte di origine cheratojalinica), forse per un fenomeno di osmosi o forse anche per la rottura di qualche involucro, e allora si verifica un mutamento improvviso nell' affinità colorante, che si potrebbe paragonare a un fenomeno di saturazione. Le gradazioni di questo passaggio non sempre si possono afferrare; esse sono rappresentate da scarsi elementi che hanno assunto una forma allungata, lanceolata, anfofili, ma che si colorano di preferenza colle tinte acide (eosina). In esse si distingue (ma non sempre) uno spazio chiaro corrispondente al nucleo.

---

[1]) Bleu di indamina acquoso all' 1%, 1'—2'; acqua distillata; rosso d'acridina acquoso 1%, 2'—5'; acqua distillata; alcool assoluto, benzolo, balsamo; l'eleidina è rosso vivo, così pure i nuclei in via di evoluzione eleidinica. I nuclei comuni sono azzurri.

Subito al disopra si passa in uno altro strato assai più ampio, che corrisponde alla porzione mediana del lucido, allo strato eleidinico vero. In questo notiamo degli elementi allungati nel senso della superficie della cute, coi contorni piuttosto irregolari, addossati e compressi gli uni contro gli altri, che negli avvallamenti corrispondenti agli zaffi interpapillari mostrano figure più tozze, irregolarmente poligonali a margini rientranti. Queste cellule appaiono regolarmente costituite da due porzioni: una centrale che forma la massa principale di aspetto omogeneo, che si colora bene col victoriaviolett, coll' indazina, coll' acridinrot ed è circondata da un' altra zona che ha maggiore affinità coll' auramina, col picrato di NH_4, come pure colla cianina, colla eosina e via dicendo.

La prima zona corrisponde al corpo cellulare, la seconda ad un vero e proprio involucro membranoso; a quello stesso che abbiamo veduto formarsi stabilmente nel cheratojalinico, e che sarà poi evidentissimo nel corneo.

Questa membrana si colora in aranciato col metodo al rosso di acridina + eritrosina + cianina; in azzurro con quello al rosso d'acridina + cianina; si tinge in rosso con una soluzione alcoolica di Rhodamin B e assume in genere tutti i reattivi che tingono la membrana nel granuloso (porpora di Hessisch ecc.).

In questo strato molto raramente è possibile riscontrarvi un' areola chiara che corrisponde al nucleo; quando esiste compare più facilmente nelle cellule che si trovano in corrispondenza delle infossature dei solchi interpapillari.

Da tutto questo complesso si riceve l'impressione che si tratti di elementi fortemente compressi l'uno contro l'altro; e dove la compressione è minore si scorge l'area chiara centrale corrispondente alla zona già occupata dal nucleo. Si può ammettere che siano cellule in particolare condizione chimica (stato colloidale?); si deve peraltro ritenere accertato che si tratta di elementi in cui tutti i componenti citoplasmatici si dono fusi in una massa amorfa e semiliquida che occupa per intero il corpo cellulare.

Passata la parte centrale del lucido, cioè lo strato eleidinico vero, si giunge ad un' altra zona di transizione che presenta gli stessi caratteri microchimici di quella posta fra lo strato cheratojalinico e quello eleidinico, e in cui le cellule subiscono quasi un processo inverso. Si tratta degli stessi elementi che si colorano coll' eosina o colla cianina, di cellule dapprima allungate che però a poco a poco si ingrossano, diventano poligonali, losangiche, romboidali. Si direbbe che, cessata l'azione che le teneva così compresse si rigonfino e riprendano la loro forma primitiva. Ricompare l'areola chiara centrale, mentre il corpo cellulare perde a poco a poco la

sua affinità verso le tinte prevalentemente acide per assumerne altre che caratterizzano la cellula cheratinica.

Si tratta anche qui di una zona di passaggio perfettamente analoga e si può dire inversa a quella esistente tra il granuloso e l'eleidinico, colla sola differenza che invece di essere strettissima è più larga e va decrescendo verso la zona cheratinica; difatti al posto di una o due file di elementi si può in certi punti vederne anche sette od otto.

Nel passaggio tra lo strato cheratojalinico e quello eleidinico noi abbiamo una cellula vivente che rapidamente si trasforma in una massa amorfa, forse in istato colloidale che può dal punto di vista funzionale considerarsi come una trasformazione *in toto* dell' elemento cheratojalinico in una zolla amorfa eleidinica, nella stessa guisa di un elemento glandolare olocrino. Da questo abbiamo in maniera più lenta il ritorno dell' elemento colloidale amorfo in cellula cheratinogena, con un' area chiara centrale in cui non è possibile coi metodi usuali dimostrare il nucleo. Non si può escludere che con nuovi metodi un giorno possano mettersi in evidenza dei residui di esso; non è possibile invece che si riesca a dimostrare un nucleo completo, perchè come abbiamo visto, esso si fonde coi grani di cheratojalina e va a far parte dell' eleidina. Però contro l'ipotesi che tale area sia vuota e non piuttosto piena di una sostanza acromatica fondamentale sta il reperto che si osserva nel corneo di spazi veramente vuoti e rifrangenti che corrispondono agli antichi nuclei.

La persistenza di fibrille in questa zona costituisce un fatto raro e variabile specialmente col tipo di cheratinizzazione: in linea generale si deve ritenere che quando nell' elemento eleidinico si può con reattivi adatti dimostrare l'eleidina, non si possono vedere le fibrille; invece con altri reattivi e precisamente con quelli che servono a mettere in evidenza sia i filamenti, sia la membrana (porpora di Hessisch ad es.) si possono spessissimo osservare fibrille in maggiore o minore quantità. Ho già detto come in certi preparati di pelle di polpastrello di dita della mano vicino all'unghia si possano vedere cellule che attraversano col loro apparato fibrillare intatto tutto il lucido e passano tali e quali al cheratinico. Si tratta di elementi che hanno subito una evoluzione cheratinica precoce senza il passaggio attraverso lo stato eleidinico, o si sono precocemente liberati dall' eleidina che contenevano.

Altre volte attraverso al lucido pàssano elementi non già provveduti di fibrille, ma che hanno subito quella forma speciale di cheratinizzazione che vedremo in seguito effettuarsi e che ho denominato parenchimatosa e vedremo allora come tale cheratinizzazione si produca direttamente dalle cellule cheratojaliniche, come un fenomeno perfettamente analogo al precedente.

Se si considera che lo strato eleidinogeno e quello cheratinogeno assumono quelle sostanze coloranti che nello strato eleidinico (eosina, cianina) ed anche altrove (porpora di Hessisch) tingono l'involucro, si potrebbe sospettare che fosse appunto questo che nei due strati viene colorato e dedurre che gli strati stessi siano nè più nè meno che una parvenza. Ma tale ipotesi non si può accogliere perchè non è ammissibile che coi metodi di dimostrazione tanto del contenuto delle cellule che della membrana, non si possa almeno in qualche elemento sezionato a mezzo mettere in evidenza il primo; e poi ciò potrebbe tutt' al più prendersi in considerazione per l'eleidinogeno, fatto di due o tre file di elementi, ma non mai per il cheratinogeno assai più ampio e più costantemente rilevabile.

Si deve invece a parer mio ritenere che rappresentino zone di transizione e rispettivamente di produzione (eleidinogeno) e di trasformazione e di eliminazione (cheratinogeno) della eleidina che si è accumulata in seno al corpo cellulare.

La quantità dell' eleidina varia, come è naturale, col variare delle regioni; non bisogna però credere che si possa giungere ad una mancanza assoluta come a tutta prima potrebbe sembrare. Io debbo qui ripetere quanto ho detto a proposito della cheratojalina: è rarissima (di gran lunga ancor più rara di quest' ultima) la mancanza completa di eleidina; può osservarsi ma in ogni modo tale mancanza è limitata a zone molto strette. All' opposto è veramente degna di nota la grande frequenza e regolarità colla quale essa appare ovunque.

Nella massima parte dell' ambito cutaneo si manifesta in forma di una strettissima zona, per lo più fatta di una sola o di due linee di elementi in cui si vede nettissima la membrana cellulare, e molte volte si può vedere ancora la traccia di un nucleo (paraeleidosi normale[1])). Spessissimo però si vede quest' ultimo farsi piccolo, atrofico, rotondo come una sfera, e improvvisamente assumere i reattivi dell' eleidina, subire cioè l'involuzione descritta.

L'eleidinogeno e il cheratinogeno sono sempre rilevabili con difficoltà.

E' possibile talora vedere il lucido fatto di una o due file di elementi: non in immediato contatto col cheratojalinico, ma distanziato mediante un ordine o due di cellule che però non dànno le reazioni dell' eleidinogeno, ma sono vuote. E' rarissimo poi vedere una zona cheratinogena.

Nelle pseudomucose e nelle mucose la funzione eleidinica manca od è scarsissima.

Un particolare modo di formazione del lucido si osserva quasi costante-

---

[1]) Vedi più avanti.

mente in vicinanza dell'unghia, particolarmente in corrispondenza dell'iponichio e nelle parti limitrofe. Le cellule del Malpighiano dopo aver prodotto o meno della cheratojalina in debole quantità subiscono la evoluzione eleidinica solita ma colla differenza che conservano il loro nucleo più o meno intatto o picnotico, o schiacciato e allungato a biscotto, o vacuolare.

Questi nuclei scompaiono poi nel formarsi della cheratina; essi sono fortemente basofili e si dimostrano coi comuni colori basici: si colorano particolarmente bene col Phenylenblau, coll' Indulinscharlach, od anche col Neutralviolett, colle Pironine, ecc.

Volendo differenziarli dagli altri nuclei si può adoprare il metodo seguente:

1) Indulinscharlach 1 %, 5'—10'; 2) H_2O; 3) Indaminblau 1 %, 2'—3' (meno bene indazina); 4) H_2O; 5) Alcool assoluto, benzolo, ecc. I nuclei normali sono azzurri, quelli del lucido rossi.

Io chiamo questo fenomeno paraeleidosi normale. A proposito dello studio dell' unghia e del pelo vedremo come in questi due organi la produzione dell' eleidina si effettui sempre con fatti che per quanto siano di natura tutta particolare, tuttavia debbono considerarsi come veri e propri fenomeni di paraeleidosi.

* * *

Non mi tratterrò a far rilevare l'importanza di questi reperti che contribuiscono almeno in parte a spiegare il fenomeno assai complesso della eleidinizzazione della cute umana, e non discuterò quindi le deduzioni che dal confronto dei miei risultati con quelli degli altri autori possono farsi.

Mi sia lecito però fermare l'attenzione sulla descrizione che dell' eleidina stessa danno alcuni autori.

Ciliano descrive l'eleidina in forma di gocce, di lacune, di listerelle, che dànno complessivamente l'impressione che si tratti di una massa fluida. All' interno delle gocce possono talora vedersi dei vacuoli rotondi, nettamente delimitati. Questi vacuoli sono evidentemente l'avanzo dei nuclei.

Su sezioni di pezzi fissati in alcool e non inclusi, colorate con soluzione acquosa di nigrosina, egli vide l'eleidina occupare specialmente lo strato basale, e in taluni punti disporsi secondo due strisce parallele tra loro e seguenti le ondulazioni della cute. Attribuì questo fatto a un ripiegamento del pezzo nel sezionarlo. [E' probabile invece che le strisce parallele corrispondano invece ai due strati eleidinogeno e cheratinogeno.]

Wile proseguendo e completando le ricerche di Ciliano, studiò il modo di comportarsi dell' eleidina di fronte alle varie sostanze coloranti,

le differenze tintoriali tra l'eleidina e il corneo basale, la distribuzione dell' eleidina.

Nella tavola riferita a pag. 249 dettagliatamente riporta i risultati ottenuti, che sono così riassunti nelle conclusioni:

1°) Mediante determinati metodi di colorazione può essere messa in evidenza nel corneo superbasale una sostanza identica per consistenza e affinità coloranti all' eleidina.

2°) I migliori mezzi di colorazione dell' eleidina e della sostanza analoga del corneo superbasale sono gli azoderivati: Rosso Congo, Resorcinblau, Benzoscharlach puro, Halbwollcyanin, Diamingrün, Nigrosin, Alkaliblau, Wasserblau, Pikrokarmin. Un' aggiunta di acido picrico, rende le colorazioni più intensive.

3°) Da ultimo termina facendo rilevare che lo strato basale non si tinge completamente coi colori dell' eleidina.

Credo inutile l'osservare che l'autore ha veduto esattamente come stanno le cose, ma le ha interpretate, a parer mio, non giustamente: coi reattivi che egli ha adoprati e su sezioni di pezzi fissati in alcool egli non ha colorato lo strato eleidinico vero (o parte centrale del lucido o strato basale propriamente detto di Unna) quello cioè che contiene la eleidina caratteristica, ma gli strati limitanti di esso, cioè l'eleidinogeno o il cheratinogeno, e con maggiore probabilità quest' ultimo (corrispondente al superbasale di Unna) assai più rilevante e più facile a riscontrare.

Wile vide che le cellule dello strato superbasale di Unna racchiudono attorno alle cavità nucleari delle forme anulari che sono identiche all'eleidina diffusa dello strato basale, anzi tendono a colorarsi alquanto più intensamente di quest' ultima. Egli quindi concluse che l'eleidina dello strato superbasale fosse circondata da un mantello di sostanza che ha affinità coloranti opposte a quelle dell' eleidina stessa. Questa descrizione però, poco chiara non lascia comprendere che cosa realmente egli abbia veduto.

Da questo lavoro di Wile parrebbe dimostrato che, all' infuori di poche eccezioni, i colori basici tingono lo strato basale e non l'eleidina, mentre quelli acidi (azoderivati) colorano in massima parte l'eleidina, e quasi nessuno il corneo basale, ossia l'eleidina si comporta come una base, il corneo basale come un acido.

Prendendo le mosse da questo lavoro, nonchè da quelli di Unna e Golodetz, Gavazzeni eseguì dapprima delle ricerche sulla tricojalina, poi sull' eleidina. Confermò le differenze notevoli che esistono fra l'eleidina e il corneo basale, e concluse che gli involucri delle cellule del corneo basale hanno reazione acida, mentre l'eleidina albuminosa in essi contenuta ha reazione basica.

Queste brevi osservazioni ho voluto fare col solo scopo di far rilevare come si sia molte volte confusa l'eleidina vera della parte centrale del lucido colle sostanze eleidinogena e cheratinogena.

Terminerò ricordando che anche il Buzzi, che pure ha fatto studi notevoli sull' argomento, commette necessariamente lo stesso errore quando per la dimostrazione dell' eleidina raccomanda l'estratto di Orseille, il Rosso Congo, la Nigrosina, la tint. d'Alkanna.

* * *

Per concludere credo di poter così riassumere brevemente i reperti da me ottenuti.

Dove è più sviluppato lo strato lucido comprende tre sottostrati:

1) Uno inferiore in rapporto diretto col granuloso, fatto di pochissimi elementi che io chiamo strato preeleidinico o eleidinogeno, corrispondente allo strato intermedio di Ranvier, a quello infrabasale di Unna.

In esso avvengono particolari e brusche modificazioni del nucleo e della cheratojalina: il primo può farsi vacuolare o picnotico, o raggrinzarsi in un corpiciattolo di forma stellata; la cheratojalina si condensa in blocchi, oppure si addossa alla membrana nucleare formando assieme un anello più o meno voluminoso, oppure riempie in forma di minuti granuli il corpo cellulare. Ad un tratto, in maniera molto brusca, la cheratojalina si fonde in una massa d'apparenza fluida che riempie il corpo cellulare e altrettanto può fare il nucleo per conto suo, se naturalmente non ha in antecedenza preso parte alla produzione di cheratojalina. A un tratto il nucleo, d'aspetto omogeneo, perde bruscamente la sua cromotafilia normale, e, con metodi adatti, (ad esempio bleu di indamina e rosso d'acridina od altri) lo si può differenziare anche dal punto di vista cromatico dai nuclei delle cellule granulose, inquanto che assume i colori del lucido, cioè subisce una trasformazione eleidinica.

In un secondo tempo la sostanza nucleare così modificata e quella protoplasmatica si fondono repentinamente (probabilmente per fenomeni di osmosi o per la rottura dell' involucro nucleare), e allora per un fatto verosimilmente di saturazione, la massa risultante muta d'affinità colorante e assume di preferenza i colori acidi.

2) Uno strato mediano, strato eleidinico propr. detto, che corrisponde al basale di Unna. In questo, più ampio del precedente, gli elementi allungati, lanceolati, fusiformi sono costituiti da un contenuto protoplasmatico prevalentemente basofilo e da un involucro in massima anfofilo. Un' areola chiara corrispondente all' antica sede nucleare, può trovarsi tutt' al più nelle infossature dei solchi interpapillari. Sono cellule in cui tutti gli elementi nucleari e protoplasmatici si sono fusi in una massa

amorfa e semiliquida, forse in istato colloidale racchiusa entro la membrana; cellule compresse le une contro le altre che, dove la compressione è minore, si dilatano lasciando vedere l'area chiara centrale.

3) Uno strato superiore in diretto rapporto col corneo, che ho denominato strato precheratinico o cheratinogeno, equivalente allo strato inferiore dell' epidermide cornea di Oehl, a quello superbasale di Unna; nel quale si verifica il processo inverso di quanto si è osservato nell' eleidinogeno: ricompare quasi costantemente l'areola centrale, le affinità coloranti del protoplasma sono le stesse dell' eleidinogeno, gli elementi si fanno più rigonfi e con passaggio lento e graduale si trasformano in cellule cheratiniche. Questo strato è sempre più ampio dell' eleidinogeno.

La persistenza o meno di fibrille in questo strato costituisce un fatto variabile: frequentemente si nota, e sopratutto all' apice delle dita in vicinanza dell' unghia, che elementi del corpo malpighiano, privi di fibrille passano tali e quali attraverso al lucido senza subire l'evoluzione eleidinica, ed altrettanto può accadere di cellule che precocemente hanno subito la cheratinizzazione parenchimatosa.

Il lucido nel suo complesso varia in riguardo allo spessore a seconda delle sedi ma non manca quasi mai completamente. Non sempre invece si riesce a fare la distinzione nei tre sottostrati sopra descritti.

Accade alcune volte di poter constatare che le cellule eleidiniche hanno conservato il loro nucleo per quanto picnotico o in qualsiasi manièra, degenere. Si osserva ciò specialmente nella corneificazione dell' unghia e nelle regioni limitrofe. Ho chiamato tale fenomeno paraeleidosi normale.

Bebon, Studien über die Hornschicht der menschlichen Oberhaut; spez. über die Bedeutung des Stratum lucidum. Kiel 1887.
Björkenheim, Anat. Anzeiger 1906. XXVIII. S. 445.
Branca, l. c.[1])
Buzzi, Monatsh. f. prakt. Dermat. 1889. VII. S. 761; VIII, S. 149.
—— Ibidem 1896. XXIII. f. 11.
Cedercreutz, Arch. f. Derm. u. Syph. 1906. LXXIX, S. 41 u. 1907. LXXXIV, 173.
Ciliano, Monatsh. f. prakt. Dermat. 1908. XLVI, S. 435.
Darier, l. c.
Dreysel u. Oppler, Archiv f. Dermat. u. Syphilis, 1895. XXX, S. 63.
Ehrmann u. Fick, l. c.
Frickenhaus, Monatsh. f. prakt. Dermat. 1896. XXIII, S. 57.
Gavazzeni, Monatsh. f. prakt. Dermat. 1909. XLIX, S. 56.

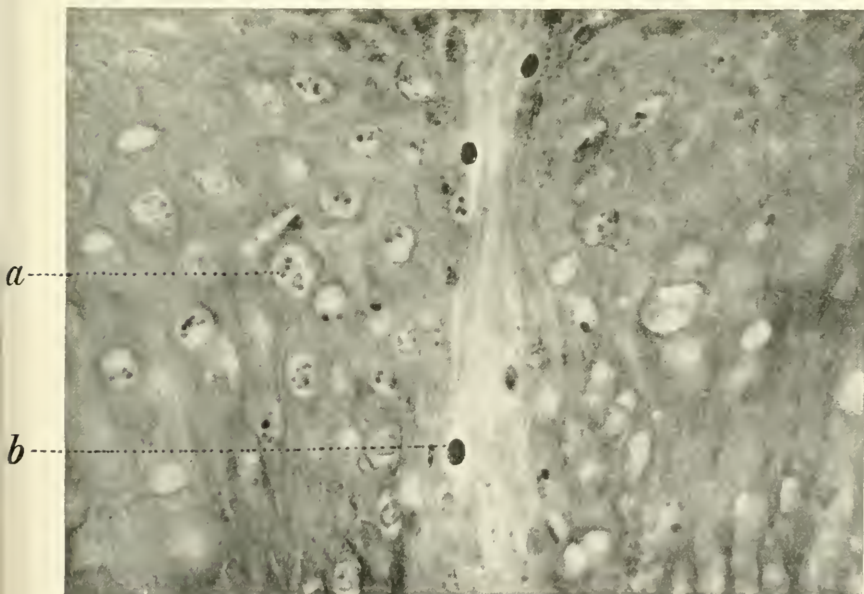
[1]) I ll. cc. Si riferiscono ai lavori citati nelle bibliografie delle antecedenti memorie.

Gottstein, Berlin, Klin. Wochenschrift, 1887. S. 907.
Grosse, l. c.
Jarisch, Hautkrankheiten, 1900.
Kromayer, Arch. f. Dermatol. 1890. XXII, S. 557.
Lewin, Berlin, Klin. Wochenschrift 1886. II.
Mibelli, l. c.
Oehl, l. c.
Rabl, l. c.
Ranvier, Arch. de Physiologie 1884.
——, Traité d'Anat. microsc. 1888, I. ediz.; e 1897, II. ediz. (S. 672).
Schrön, l. c.
Sticker, Entwickl. u. Bau d. Wollhaares beim Schafe. Inaug.-Dissert. Berlin 1887.
Unna, Hautisthopatologie 1891, 895.
Weidenreich, l. c.
Wile, Monatsh. f. prakt. Dermat. 1909. XLVIII, S. 245.

Spiegazione della tavola.

Lastra autocrom. Lumière da un preparato colorato con Victoriaviolett—Safrosin; al di sopra del granuloso si vedono i due limitanti in rosso e l'eleidinico in azzurro.

La figura qui sottostante si riferisce alla seconda nota, nella quale è annessa anche la spiegazione.



Über Abweichungen bei der Eireifung von Ascaris.

Von

Bruno Geinitz.

(Aus dem Zoologischen Institut Würzburg.)

Mit Tafel XXXVIII—XL und einer Textfigur.

Einleitung.

Die außerordentlich umfangreiche cytologische Literatur über *Ascaris megalocephala* ist noch ständig im Wachsen begriffen. Einerseits bieten trotz der zahlreichen, zum Teil ausgezeichneten Untersuchungen die normalen Vorgänge vor allem der Geschlechtszellenreifung noch immer eine Reihe ungelöster Probleme, andererseits besitzt dieses merkwürdige Objekt neben all seinen sonstigen Vorzügen auch die interessante Eigenschaft, relativ häufig in größerem oder geringerem Grade Abnormitäten zu bilden. Neben den Beobachtungen über die Wirkungsweise experimenteller Eingriffe (Kältebehandlung, Sala, Centrifugieren, Boveri, Hogue, Radiumbestrahlung, P. Hertwig, Payne) hat gerade das Studium spontaner Abweichungen vom normalen Geschehen eine große Reihe interessanter Tatsachen zu Tage gefördert und zu wichtigen Folgerungen geführt. Ich erinnere nur an die zuerst von Boveri (1887/88) und später noch wiederholt (Boring 1910, Kautzsch 1913) beschriebenen Fälle abnormer Richtungskörperbildung, an die Rieseneier (zur Strassen 1898, 1906) und an die mehrfachen Angaben über »Heterochromosomen«.

In der vorliegenden Arbeit möchte ich nun ebenfalls über einige Abweichungen berichten, die ich bei der Eireifung von *Ascaris megalocephala* verfolgt habe. Die Arbeit zerfällt in zwei Teile. Der erste Teil beschäftigt sich mit abnormen Chromosomen der Reifungsteilungen, die hier nicht als Tetraden, sondern als Dyaden auftreten. Der zweite Teil bringt einen Beitrag zur Frage der Geschlechtschromosomen.

Die Anregung zu diesen Untersuchungen verdanke ich Herrn Geheimrat Boveri. Für das ständige Interesse und die vielen Ratschläge und Hinweise, mit denen er meine Arbeit geleitet und gefördert hat, möchte ich auch an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer meinen herzlichsten Dank sagen.

I. Teil.

Abnorme Chromosomen in den Reifungsteilungen einer Ascaris megalocephala bivalens (Dyaden).

Material und Methode.

Das Material, von dem in diesem Teil der Arbeit die Rede sein soll, stammt aus den Eiröhren einer *Ascaris megalocephala bivalens*, die Herr Geheimrat BOVERI vor einigen Jahren fixiert hatte und mir freundlichst zur Verfügung stellte. Die Eiröhren waren in einer schwachen Alkohol-eisessig-Mischung fixiert (95 Teile 70%iger Alk. + 5 Teile Eisessig). Die Untersuchung wurde zum größeren Teil an ganzen Eiern, die mit Grenachers Boraxkarmin gefärbt waren, vorgenommen, zum andern Teil an Schnittserien von 10—20 μ Dicke, nach Färbung mit HEIDENHAYNS Eisenhämatoxylin. Die erstere Methode verdient in diesem Falle unstreitig den Vorzug, da man hier stets sämtliche Chromatinelemente zugleich vor sich hat, und außerdem die Eier von allen Seiten beobachten kann. Denn durch vorsichtiges Verschieben des Deckglases bei nicht ganz festem Balsam kann man selbst unter starker Vergrößerung die Eier leicht in jede beliebige Lage drehen, wie dies ja schon vielfach geübt worden ist. Auch an ganz alten Präparaten kann man durch geringen Xylolzusatz an den Rand des Deckglases den festen Balsam in kurzer Zeit auf den gewünschten Grad der Zähflüssigkeit bringen.

Einleitung und Literatur.

In der Prophase der ersten Reifungsteilung erscheinen bei *Ascaris megalocephala bivalens* die zwei allbekannten Tetraden, jede aus vier kurzen dicken, meist etwa gleichlangen Stäbchen bestehend. Von sämtlichen Oocyten des untersuchten Wurmes zeigte indessen keine einzige dieses gewohnte typische Verhalten, sondern hier traten stets nur zweiteilige Elemente auf. Ich werde sie der Kürze halber als »Dyaden« bezeichnen, ohne damit zunächst über ihre Wertigkeit etwas aussagen zu wollen. Diese interessante Abnormität ist bisher aus der Oogenese noch nicht beschrieben worden.

In der *Ascaris*-Literatur fand ich nur eine einzige Angabe über eine ähnliche Erscheinung, und zwar in einer Arbeit von TRETJAKOFF (1905b) über die Spermatogenese von *Asc. meg.* TRETJAKOFF fand, daß in einigen Spermatocyten keine Tetraden gebildet wurden, sondern das Chromatin war hier auf eine Anzahl verschieden großer Körner verteilt, von denen die größten eine Längsspaltung aufwiesen. Meist verschmelzen diese Körner mehr und mehr und bildeten schließlich vier einmal längs ge-

spaltene Fäden. Deren Spalthälften werden in der ersten Teilung getrennt. Beim Auseinanderweichen verschmelzen die einzelnen Teile, zerfallen dann aber in den Spermatocyten II wieder, erst in größere Stücke, schließlich in feine Körner. Diese sollen dann wiederum verschmelzen und sich zu paarigen Parallelfäden anordnen, die in der zweiten Teilung geteilt werden, wenn sich auch hier keine so regelmäßigen Bilder ergaben wie bei der ersten Teilung. Die Spermatiden zeigen unregelmäßige Kernumrisse, und Tretjakoff fand Spermatozoen mit ähnlichen Kernen auch im Uterus eines Weibchens und glaubt, daß auch die von solchen Spermatozoen befruchteten Eier sich normal entwickelten.

Beschreibung.

Erste Reifungsteilung.

Schon in den Keimbläschen der noch unbefruchteten Oocyten sind zuweilen außer dem Nucleolus vier zweiteilige Elemente erkennbar (Taf. XXXVIII Fig. 1). Deutliche Bilder aber geben erst die Stadien vor und während der ersten Reifungsteilung.

In die erste Richtungsspindel treten in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle vier Dyaden ein, Chromatinelemente, die aus zwei gleich langen, gleich dicken, durch einen weiten Zwischenraum getrennten, aber häufig durch achromatische Fäden verbundenen Teilen bestehen (Taf. XXXVIII Fig. 2—4, 7, 8). Ganz ohne Ausnahme zeigen diese vier Elemente einen sehr auffallenden Größenunterschied, indem stets zwei größere und zwei kleinere Dyaden vorhanden sind. Diese Differenz kann so erheblich sein, daß eine große Dyade etwa die doppelte Länge einer kleinen erreicht (Fig. 7, 8). Meist dürfte indessen ein Längenverhältnis von etwa 3 : 2 bestehen (Fig. 2—4). In der Dicke treten keine konstanten oder ungewöhnlichen Unterschiede auf. Die beiden großen und die beiden kleinen Dyaden zeigen unter sich meist nur geringe Größenunterschiede, sind aber doch fast nie gleich lang. Die beiden kleinen sind außerdem häufig recht verschieden gebaut (Fig. 7, 8). Die eine besteht aus zwei geraden parallelen Stäbchen, die meist etwas dicker und etwas feinkörniger sind als die übrigen; die Elemente der andern kleinen Dyade verlaufen meist mehr oder weniger gekrümmt und sind in ihrem mittleren Teil normal gebaut, enden aber an einer oder an beiden Seiten in einen dickeren homogen erscheinenden Chromatinknopf. Oft sind solche Unterschiede aber auch nicht vorhanden oder doch nicht deutlich (Fig. 2, 3).

Im allgemeinen aber erscheint die Struktur der Chromosomen lockerer als an normalen Tetraden. Nur an frühen Vorbereitungsstadien zur ersten Richtungsspindel findet man bei anderen Würmern ähnliche Bilder, wo

die Tetradenstäbchen noch viel länger und von lockererem Gefüge sind als später im Spindelstadium. Zuweilen ist das eine Ende einer Dyade aus zahlreichen kleinen Körnchen zusammengesetzt, während sich die andere Seite aus relativ wenigen größeren Körnern aufbaut (Fig. 3). Diese zeigen dann, wo sie deutlich ausgebildet sind, oft in den beiden Elementen der Dyaden eine schon häufig beschriebene ganz regelmäßige Anordnung, so daß jedem Korn des einen Fadens ein entsprechendes auf der anderen Seite gegenüber steht (Taf. XXXVIII Fig. 3, 5). Die Dicke der einzelnen Elemente entspricht ganz der eines normalen Tetradenstäbchens.

In der Form zeigen sich mancherlei Variationen. Die beiden Elemente der Dyaden hängen meist an einem Ende zusammen (Fig. 2—8). Oft vergrößert sich der Abstand zwischen beiden, so daß dann eine U-Form entsteht (Fig. 6). Der Zusammenhang an dem einen Ende kann sich auch ein Stück auf die Länge erstrecken, woraus sich dann Y-förmige Figuren ergeben (Fig. 2, 3). In seltenen Fällen treten auch die Enden an beiden Seiten in Kontakt, und es kommt so zur Bildung geschlossener Ringe (Fig. 5, 7). Der Verlauf der beiden Schenkel ist im allgemeinen parallel, doch kommen häufig Überschneidungen und Krümmungen vor (Fig. 4, 5, 7).

Nur selten fand ich in diesem Stadium mehr als vier Elemente. So kam es vor, daß statt einer großen Dyade zwei kleine von gleicher oder auch verschiedener Größe vorhanden waren. In Fig. 6, Taf. XXXVIII z. B., glaube ich, haben von den vier kleinen Dyaden ursprünglich zwei zusammengehört (vielleicht die beiden links unten gelegenen) und haben zusammen die zweite große Dyade gebildet. Möglicherweise sind in solchen Fällen die Chromatinelemente von vornherein in dieser abweichenden Zahl und Größe aus dem Ruhekern hervorgegangen. Meist glaube ich indessen, daß ein nachträgliches Zerbrechen stattgefunden hat. Fig. 4 zeigt gut die Entstehungsmöglichkeit solcher Fälle. Der eine Schenkel der einen großen Dyade ist in der Mitte durchgebrochen, und die Bruchstellen haben sich etwas von einander entfernt. Und es ist nun leicht denkbar, daß auch der andere Schenkel an der entsprechenden Stelle zerbrechen könnte, wodurch ein ähnliches Bild, wie es die Fig. 6 zeigt, entstehen würde.

Gelegentlich fand ich auch neben dem gewohnten Bestand noch ein kleines überzähliges, ebenfalls längs gespaltenes Element. In Fig. 5, Taf. XXXVIII stellt es sich als ein Gebilde dar, das man für eine kleine Tetrade halten könnte. Ich glaubte zuerst, da ich auch mit der im zweiten Teil zu besprechenden Frage der Geschlechtschromosomen beschäftigt war, ein elegantes Beispiel einer typischen »X-Tetrade« vor mir zu haben. Einer solchen Deutung steht auch meiner Meinung nach an und für sich nichts im Wege. Aber einerseits könnten so seltene Befunde —

ich sah ähnliche Bilder nur etwa dreimal — nicht viel beweisen, zumal ich sonst in diesem Material keine Spur von Heterochromosomen gefunden habe. Zum andern liegt, glaube ich, die Erklärung sehr nahe. Es handelt sich gar nicht um ein vierwertiges Element, sondern um ein abgebrochenes Stück einer Dyade, und zwar einer solchen, deren Endteil aus einzelnen größeren Körnern bestand, wie etwa das stumpfe Ende der größten Dyade in Fig. 3 und 5. Von jedem Schenkel der Dyade wäre gerade eine aus zwei Körnern bestehende Strecke abgebrochen. Und da nicht nur die Körner eines Fadens, sondern auch die beiden Schenkel untereinander oft achromatische Verbindungen besitzen, so erklärt sich die Erscheinung der »Tetrade« ganz gut. Auch hier ist indessen wiederum die Möglichkeit nicht auszuschließen, daß das kleine Element von vornherein seine Selbständigkeit bewahrt hat. Es würde dann einer der »Mikrotetraden« entsprechen, wie sie Brauer (1893) und Sabaschnikoff (1897) beschrieben haben, an deren Abbildungen es in der Tat stark erinnert.

Auch in all den, wie schon gesagt, ziemlich seltenen Fällen, wo mehr als vier Elemente vorhanden waren, zeigte stets ein jedes eine deutliche Längsspaltung, genau wie die vier die Regel bildenden Dyaden.

In der ersten Reifungsteilung (Taf. XXXVIII Fig. 9) werden die bis dahin zusammenhängenden Elemente der Dyaden getrennt, so daß beim normalen Verlauf in den ersten Richtungskörper wie in die Oocyte II je zwei längere und zwei kürzere einzelne Stäbchen gelangen. Die Telophase der I. Teilung und die Abschnürung des ersten Richtungskörpers sind sehr selten zu beobachten und geben auch dann fast nie klare Bilder, da das Chromatin sich auf diesen Stadien stets eng zusammendrängt und durcheinander krümmt. So ist auch der Inhalt des ersten Richtungskörpers fast nie genau analysierbar. Taf. XXXVIII Fig. 10 zeigt eines der wenigen Bilder, wo dennoch die Verhältnisse klar zu erkennen sind. Die einen Spalthälften der vier Dyaden liegen in der Tiefe in dem eben abgeschnürten ersten Richtungskörper, die andern in der Oocyte II.

Die erste Richtungsspindel nimmt zuweilen statt ihrer normalen radialen eine paratangentiale Stellung ein, wie dies zuerst Boveri (1887) beschrieben hat. Es kommt wohl zu einer Chromosomenteilung, nicht aber zur Abschnürung eines ersten Richtungskörpers, und wir sehen daher die ganze Chromatinmenge in die zweite Richtungsspindel eintreten. Solche Fälle waren in dem vorliegenden Material ziemlich häufig. Taf. XXXVIII Fig. 11 zeigt ein solches Bild, und zwar eins von den wenigen, wo keines der Stäbchen weiter zerbrochen ist, sondern nur die Dyaden (bis auf eine) in ihre Hälften zerlegt sind, wie es in unserem Fall der ersten Reifungsteilung entspricht.

Zweite Reifungsteilung.

In der normalen II. Richtungsspindel finden wir also vier Elemente, die Hälften der vier Dyaden, deren charakteristische Größen- und Strukturdifferenzen oft noch ganz deutlich sind (Taf. XXXVIII Fig. 12, 13). Fig. 12 z. B. könnte direkt als II. Teilung des gleichen Objekts aufgefaßt werden, das in Fig. 8 abgebildet ist. Ich habe mit Ziffern die einander entsprechenden Elemente bezeichnet. Die vier Elemente sollen nun als solche, d. h. ungeteilt, auf den II. Richtungskörper und das reife Ei gleichmäßig verteilt werden. In seltenen Fällen wird dies auch erreicht. Eizelle und Richtungskörper erhalten dann je ein langes und ein kurzes Stäbchen. Dies ist in Fig. 20, Taf. XXXVIII zu sehen, wo oben der I. Richtungskörper liegt und von den vier Stäbchen der Oocyte II ein langes und ein kurzes im Begriff sind, im II. Richtungskörper ausgestoßen zu werden. In dem Vorkernstadium findet man gelegentlich Zellen mit zwei weiblichen Vorkernen von auffallend verschiedener Größe. Taf. XXXVIII Fig. 21 zeigt ein solches Bild. Der große unten gelegene Vorkern ist der männliche. Die Richtungskörper lagen an dem oberen Rande. Es liegt nahe, solche Bilder auf die besprochenen Fälle zurückzuführen, wo zwei sehr ungleiche Chromosomen dem reifen Ei verblieben, und hier dann jedes selbständig zur Bildung eines Kernbläschens überging. Allerdings ist der Unterschied der beiden Kernbläschen in Fig. 21 so groß, daß das kleinere vielleicht eher auf ein kurzes abgebrochenes Chromosomenstück zu beziehen ist.

Abnormes.

Das im Vorstehenden beschriebene Verhalten darf unter der Voraussetzung der generellen Abnormität unseres Objekts, der Dyadenbildung, um es kurz zu bezeichnen, als normal gelten. Denn es führt zu einer regelrechten, gleichmäßigen Verteilung des Chromatins auf Richtungskörper und Eizelle. Nun finden sich aber neben den Oocyten dieses Typus stets auch solche, die noch in höherem Grade abnorm sind, und zwar umso mehr, je weiter ihre Entwicklung vorgeschritten ist.

Das Chromatin zeigt nämlich eine ausgesprochene Neigung zum Zerbrechen, was bei dem lockeren Gefüge und dem nicht selten gebogenen und geknickten Verlauf der Stäbchen einigermaßen verständlich wird. Schon während der ersten Teilung sahen wir gelegentlich solche Zerreißungen auftreten. In der II. Teilung nehmen sie indessen erheblich zu. Hier zeigt sogar die Mehrzahl der Fälle eine Fragmentierung eines oder einiger Chromosomen. So glaube ich, daß das kleine Element der Fig. 16 und 18 Taf. XXXVIII und die beiden kleinen der Fig. 15, Taf. XXXVIII wohl von einem der großen Chromosomen abgebrochen sind, während

Fig. 16 wohl ein Folgestadium eines der Fälle darstellt, wo schon in der ersten Teilung eine große Dyade in zwei etwa gleich große Teile zerbrochen war, deren Hälften nunmehr in den beiden gebogenen Elementen vorliegen.

Hierzu kommt noch als weiteres die Unordnung förderndes Moment eine unregelmäßige Verteilung des Chromatins bei der Richtungskörperbildung, was ebenfalls ein Grund für die starke Zunahme der abnormen Fälle im Verlauf der Reifungsperiode ist. Zuweilen ist schon die erste Teilung ungleich. Man findet dann in der II. Richtungsspindel zu viel oder zu wenig Elemente, zum Teil noch ungeteilte Dyaden. Immerhin sind dies Ausnahmen, und meistens verläuft die erste Teilung normal.

Mit der zweiten Teilung verhält es sich umgekehrt. Hier ist das oben beschriebene normale Verhalten relativ selten, die meisten Oocyten zeigen von der II. Richtungsspindel an eine unregelmäßige Chromatinverteilung. Die Chromosomen sind hier nie zu einer regelrechten Äquatorialplatte angeordnet, sondern liegen ganz regellos über- und durcheinander (Taf. XXXVIII Fig. 12, 15, 16). Das Spindelstadium dauert sehr lange, und manche werden schließlich pathologisch, indem noch weitere Zerreißungen auftreten oder mehrpolige Figuren entstehen (Taf. XXXVIII Fig. 17, 18). Fig. 17 stellt einen der Fälle dar, wo kein erster Richtungskörper gebildet wurde. Vielleicht hat sich hier der Tetraster als eine Art Gleichgewichtszustand im Widerstreit der länger als gewöhnlich erhalten gebliebenen ersten Richtungsspindel mit der neu hinzutretenden zweiten gebildet. Auffallend ist auch, daß hier die Elemente der beiden großen und der einen kleinen Dyade noch im Zusammenhang stehen, was nicht dem gewöhnlichen Verhalten entspricht (s. o.).

Die endgültige Verteilung der Chromosomen durch die zweite Teilung ist völlig Sache des Zufalls. Man findet sehr chromatinarme zweite Richtungskörper und solche, die ganz vollgestopft erscheinen. In Fig. 19 geraten nur zwei ganz kleine Chromatinstücke in den zweiten Richtungskörper, die wohl sicher Bruchstücke und keine selbständigen Chromosomen sind. Hier wären also infolge frühzeitiger Zerreißung schon in der ersten Teilung Unregelmäßigkeiten vorgekommen.

Auch der Bestand des reifen Eis zeigt dementsprechend große Variationen. Hier bildet sehr oft jedes Element ein Kernbläschen für sich, ein Verhalten, das ja auch normale Eier gelegentlich zeigen, und dessen Häufigkeit bei diesem Material ganz der weiten Zerstreuung der Chromosomen in der zweiten Richtungsspindel entspricht. Man findet daher meist mehr als einen weiblichen Vorkern, oft zwei (s. o.). Fig. 21 Taf. XXXVIII, manchmal 3, 4, 5 und 6 (Taf. XXXVIII Fig. 22, 23). Die sechs weiblichen Vorkerne der Fig. 22 sind im Vergleich zu dem unter-

halb liegenden kleinen männlichen Pronucleus mit seinen zahlreichen, stark gefärbten Chromatinstücken schon sehr weit in ihrer Entwicklung vorgeschritten und demgemäß sehr blaß. Da diese Eizelle zwei Richtungskörper gebildet hatte, so kann auch in jedem weiblichen Vorkern nur sehr wenig Chromatin vorhanden sein, und es kann daher wohl nur auf der oben besprochenen sekundären Fragmentierung der Chromosomen beruhen, daß so viele Kernbläschen gebildet wurden. In jedem Bläschen fand ich stets einen Nucleolus, manchmal auch deren zwei. Der Größenunterschied der einzelnen Bläschen ist noch auffallender in Fig. 23. Hier ist nur ein Richtungskörper gebildet. Da aber sein Inhalt nicht analysierbar ist, läßt sich auch nicht genau angeben, wie viel Elemente in dem Ei enthalten sein müssen.

Wie die Vorkerne zeigen auch die Chromosomen der I. Furchungsspindel stark wechselnde Zahlen- und Größenverhältnisse. Taf. XXXVIII Fig. 25 zeigt z. B. einen Fall, wie ich ihn häufiger sah. Es sind zwei normal aussehende Chromosomen vorhanden, offenbar die vom Spermatozoon stammenden, und außerdem fünf verschiedene Chromatinstücke, von denen die zwei größten vielleicht zwei Stäbchen der beiden kleinen Dyaden entsprechen könnten. Die anderen Stücke aber stellen jedenfalls Fragmente vor. Einige Male schien es mir, als ob eine Befruchtung durch Univalens-Spermatozoen stattgefunden hätte. Es könnte sich nur um eine Ausnahme handeln. Denn in den früheren Stadien konnte ich nie Univalens-Spermatozoen nachweisen, auch die meisten Furchungsbilder weisen deutlich auf Bivalens-Spermatozoen hin. Trotzdem scheint mir Fig. 28, Taf. XXXVIII kaum einer anderen Erklärung zugänglich. Die Chromosomen haben sich soeben aus dem Vorkern heraus differenziert. Drei liegen auf der einen Seite der schon deutlich ausgebildeten Spindel, eines allein auf der andern. Die drei rechts gelegenen, sehr verschieden großen Chromosomen auf Rechnung des weiblichen Vorkerns zu setzen, macht nach den besprochenen Unregelmäßigkeiten keine Schwierigkeit. Wenn es sich aber um ein Bivalens-Spermatozoon handeln sollte, so müßte eines der väterlichen Chromosomen sich von den andern getrennt und den beiden mütterlichen zugesellt haben, was mir besonders auf einem so frühen Stadium eine sehr gezwungene Annahme zu sein scheint. Vielleicht ist doch dieses Weibchen zweimal begattet worden, das eine Mal von einem Bivalens-Männchen, durch dessen Spermien die große Mehrzahl der Eier befruchtet wurde, das andere Mal von einem Univalens-Männchen, dessen Spermatozoen nur noch ganz wenige unbefruchtete Eier vorfanden. Oder, was vielleicht noch plausibler ist: die erste Copulation war von einem Univalens-Männchen ausgeführt worden und es waren, als die in der Eiröhre jetzt vorhandenen Oocyten die Be-

fruchtungszone passierten, nur noch sehr wenige Univalens-Spermatozoen übrig. Daß die beiden Varietäten sich kreuzen und daß im gleichen Weibchen beiderlei Spermien vorkommen, ist ja wiederholt beobachtet worden.

Die nicht seltenen Furchungsspindeln mit drei Chromosomen könnten vielleicht zum Teil ebenso erklärt werden. Doch glaube ich, daß z. B. in Fig. 29, Taf. XXXVIII nur ein mütterliches Chromosoma vorhanden ist, und zwar das unten gelegene, auffallend schmale, während die beiden oberen, normal aussehenden wieder dem Spermatozoon entstammen würden. Gelegentlich fand ich auch Furchungsspindeln mit nur zwei Chromosomen (Taf. XXXVIII Fig. 30). Ich glaube, daß auch diese männlicher Herkunft sind, und daß hier alles mütterliche Chromatin an die Richtungskörper abgegeben worden ist, wie dies schon verschiedentlich beobachtet ist (Boveri 1887, Boring 1910, Kautzsch 1913).

Die Furchungsspindeln mit unregelmäßigem Chromatinbestand, von denen ich hier nur einige wenige Beispiele angeführt habe, sind weitaus in der Mehrzahl. Nur hier und da findet man gewissermaßen als Ausnahme die Normalzahl vier, so in Fig. 26, 27, Taf. XXXVIII. In der letzteren liegen allerdings noch zwei kleinere Chromatinstücke im Plasma, in einer erheblichen Entfernung und nicht in der Ebene der Äquatorialplatte. Solche Bruchstücke sieht man öfter im Eiplasma liegen. Sie machen die Teilung nicht mit und scheinen allmählichzu degenerieren. Trotz dieses meist unregelmäßigen Chromosomenbestandes macht die Mehrzahl der Eier mit Furchungsspindeln einen gesunden und lebenskräftigen Eindruck. Leider war keines über das Zweizellenstadium hinaus gekommen.

Besprechung.

Entstehung der Dyaden.

Bei einem Vergleich mit den normalen Verhältnissen fällt in unserem Material in erster Linie die Verschiedenheit der Zahl und Wertigkeit der Chromosomen auf. Die Oocyten I besitzen hier vier zweiteilige gegenüber den normalen zwei vierteiligen Elementen. Wir haben also hier in den Reifungsteilungen die diploide Chromosomenzahl, wenn wir, zunächst einmal vorläufig, jede Dyade als ein Chromosoma auffassen. Auf jeden Fall muß man annehmen, daß die Vorgänge, die sonst die Reduktion der Chromosomenzahl bewirken, hier nicht stattgefunden haben.

Von den zahlreichen Arbeiten der letzten Jahre, die bei den verschiedensten Tierarten diese Frage behandeln, deuten die meisten mit Bestimmtheit darauf hin, daß diese Zahlenreduktion durch Konjugation je zweier Chromosomen in den jungen Oocyten- bzw. Spermatocytenkernen erreicht wird, und zwar darf man nach den Feststellungen von

Montgomery, Sutton u. a. wohl als sicher annehmen, daß immer je ein väterliches mit einem mütterlichen Chromosom konjugiert. Bei *Ascaris* sind aber trotz vieler hierauf gerichteter Untersuchungen die Reduktion und die Tetradenbildung noch immer ungelöste Probleme.

Eine kurze Übersicht über die wichtigsten Arbeiten, die sich mit diesen Fragen beschäftigen, wird diese Behauptung bestätigen. Wir können die ältesten Arbeiten von E. van Beneden und Carnoy über die Eireifung, von van Beneden et Ch. Julin über die Samenreifung, deren Angaben längst als irrtümlich erkannt sind, übergehen. Der nächste Untersucher, Boveri (1887), der die erste genaue Darstellung der Reifungsteilungen für ein tierisches Objekt durch seine Arbeit über *Ascaris* geliefert hat, nahm ursprünglich an, daß die Tetraden durch doppelte Längsspaltung eines vorher einheitlichen Chromatinelementes entständen. Beide Reifungsteilungen wären dann äquationell, und die Reduktion würde schon vorher auf irgend eine Weise vollzogen sein. O. Hertwig (1890) und Brauer (1893) schlossen sich dieser Ansicht an. Brauer beschreibt in den jungen Spermatocytenkernen eine große Menge kleiner Chromatinkörner, deren jedes durch eine zweimalige Teilung eine kleine Tetrade bildet. Diese treten alle zur Bildung eines gemeinsamen Fadens zusammen, der dann durch eine Querteilung in zwei Segmente zerfällt, d. h. in zwei doppelt gespaltene vierteilige Chromosomen. In den Spermatogonien wird jedes Chromatinkorn nur einmal gespalten. Der Faden aber zweimal segmentiert. Die Tetraden der Spermatocyten entsprechen also infolge einer unterdrückten Querteilung zwei endweise verbundenen Keimzellchromosomen.

Ganz ähnliche Beobachtungen machte Sabaschnikoff (1897), nur mit dem prinzipiellen Unterschied, daß nach ihm vier kleine Chromatinkörper zur Bildung einer Mikrotetrade zusammentreten. Er faßt dementsprechend beide Reifungsteilungen als reduktionell auf, d. h. die Zahl der Chromatinkörner wird reduziert, während nach Brauers Ansicht nicht ihre Zahl, sondern nur ihre Masse reduziert wird.

Eine ganz andere Deutung der Brauerschen Befunde gibt Schneider (1900). Er meint, daß die nach der Synapsis vorhandenen »acht Elementarmiten« sich zu viert aneinanderlegen zur Bildung der zwei »Miten« und diese wiederum durch Parallelkonjugation eine aus acht Elementen zusammengesetzte »Stange« liefern, die durch eine Querteilung in die beiden »Tetraden« zerfällt.

Korschelt und Heider (1902) führen im Anschluß an die ursprüngliche Bovericsche Anschauung *Asc. meg.* noch als Beispiel des eumitotischen Reduktionstypus auf, bei dem also in beiden Reifungsteilungen, wie bei einer gewöhnlichen Mitose, Chromosomenspalthälften getrennt werden.

Durch zahlreiche Arbeiten an anderen Tiergruppen wurde man indessen diesem eumitotischen Reduktionstypus gegenüber immer skeptischer. Die meisten Beobachtungen deuteten entschieden darauf hin, daß die eine Reifungsteilung äquationell, die andre aber wirklich reduktionell verläuft, d. h. daß durch sie ganze Chromosomen, die sich zuvor durch Konjugation miteinander vereinigt hatten, getrennt werden.

Boveri hatte schon 1892 auf Grund der Henkingschen Befunde an Insekten als den wahrscheinlichsten Reduktionsmodus eine paarweise »Conjugation« der Chromosomen vermutet und sprach sich (1904) dahin aus, daß wohl auch die Verhältnisse bei *Asc. meg.* ähnlich zu erklären seien, daß also die Tetraden durch Zusammenlegen, durch eine Parallel-Konjugation, zweier sich längsspaltender Chromosomen entstünden. Als Stütze für diese Auffassung führte er auffallende paarweise Größenunterschiede zwischen den vier Tetradenelementen an, die er in zahlreichen Oocyten eines Wurmes beobachtet hatte. O. Hertwig (1906) schloß sich dieser Meinung an und deutete auch seine eigenen Beobachtungen in diesem Sinne. Er fand in der Prophase der ersten Spermatocytenteilung acht lange gekrümmte Chromosomen, die oft paarweise dicht nebeneinander lagen, so daß wohl jedes Paar durch Längsspaltung eines Spermatogonienchromosoms entstanden sein dürfte. Je zwei Paare verbanden sich dann durch eine Lininmasse, indem sie sich, oft kreuzweise in der Mitte über- oder aneinander legten.

Auch Tretjakoff (1905a, b) faßt die *Ascaris*-Tetrade als Vereinigung zweier längs gespaltener Chromosomen auf, beschreibt aber ihre Entstehung nach seinen eigenen Beobachtungen gerade umgekehrt wie O. Hertwig. Zunächst soll, am Ende der Synapsis, ein paarweises Aneinanderlegen von selbständigen Chromatinfäden stattfinden, dann in diesen eine einmalige Längsspaltung auftreten. Tretjakoff legt in seinen beiden Arbeiten besonderen Wert auf den Nachweis der »Doppelwertigkeit« jedes einzelnen Chromosoms, d. h. jedes der vier Tetradenstäbchen. Er beschreibt, daß bei der Herausbildung der Chromosomen in den Spermatocyten die beiden Enden getrennt entstehen und erst nachträglich miteinander verschmelzen, was häufig noch längere Zeit an dem dünnen und anders gefärbten Mittelstück kenntlich ist. Und in manchen Oocyten sah er eine Tetrade oder einzelne Stäbchen in der Mitte quer durchgebrochen. Er fand auch in seinem »Dyadenmaterial« die vier Doppelstäbchen zuweilen in der Mitte geknickt. Ähnliche Beobachtungen hatte schon Moszkowski (1901) mitgeteilt. Tretjakoff setzt also das längs gespaltene doppelwertige *megalocephala*-Chromosom homolog mit den Vierergruppen der Copepoden und Insekten und faßt die *megalocephala*-Tetrade als eine »Ditetrade« auf.

Ganz entsprechende Angaben machte dann Marcus (1906) für *Ascaris canis*. Jede der elf »Tetraden«, die er hier in der ersten Reifungsteilung bei beiden Geschlechtern beobachtete, war aus acht Chromatinelementen zusammengesetzt, und soll entstanden sein durch Konjugation zweier schon vorher längsgespaltener Chromosomen, die dann noch eine Querteilung erlitten. Diese Duplicität in den einwertigen Chromosomen konnte Marcus durch die ganze Reifung verfolgen, er konnte sie auch in den Vorkernen und sogar in den Urgeschlechtszellen nachweisen. Hier soll nun merkwürdigerweise die reduzierte Chromosomenzahl auftreten, infolge einer als »Konjunktion« bezeichneten endweisen Vereinigung je zweier schon längsgespaltener Chromosomen. Eine dem Querspalt entsprechende Teilung findet, wie Tretjakoff und Marcus übereinstimmend angeben, in beiden Fällen niemals statt, sondern beide Teilungen verlaufen »längs«, in der einen wird wirklich reduziert, d. h. die Konjuganten werden wieder getrennt, in der andern werden die Chromosomenspalthälften auseinander geführt[1]).

Griggs (1906) indessen, der nächste Bearbeiter, nimmt bei seinem Erklärungsversuch wieder, wie Brauer und Sabaschnikoff eine richtige Querteilung an. Er beschreibt in der Prophase zwei Pachytänfäden, die sich der Länge nach spalten, dann hufeisenförmig krümmen und zum Schluß durch eine Querspaltung die beiden Tetraden entstehen lassen.

Blanckertz (1910) stellt die Tetradenbildung wiederum in andrer Weise dar. Allerdings hat er mit *Asc. meg. univ.* gearbeitet, wo scheinbar die betreffenden Vorgänge wesentlich anders verlaufen. Nach ihm treten in der Prophase acht primäre Chromosomen auf, die durch Plastinzusatz und Längsstreckung zu acht sekundären werden; diese gruppieren sich um eine zentrale Chromatinmasse, die sich später als deutlicher Ring darstellt, und verschmelzen nun paarweise mit den Enden. Dadurch entstehen die vier definitiven Chromosomen, die Elemente der Tetraden. In den Reifungsteilungen erfolgt also keine Trennung der Konjuganten. Wie die Reduktion zu denken ist, läßt Blanckertz unentschieden.

Die letzte Arbeit, die über dieses Thema geschrieben ist, stammt von Saedeleer (1912). Auch er ist, wie er selber betont, nicht zu einer endgültigen Lösung des Problems gelangt. Er nimmt ebenfalls Parasyndese während der Synapsis (vgl. besonders seine Fig. 127) und hierauf Längsspaltung der Chromosomen an. Jedenfalls glaubt Saedeleer, daß diese

---

[1]) Marcus nimmt allerdings auf Grund einer interessanten Hypothese an, daß zwei echte Reduktionsteilungen stattfinden, wovon die eine großelterliche, die andere urgroßelterliche Teile trennt.

Annahme die wahrscheinlichste sei und am meisten harmoniere mit seinen Beobachtungen und seinen Figuren (es sind deren 254).

Auch bei andern Nematoden sind die Ansichten über die Tetradenentstehung noch geteilt. Ich erwähne nur, daß nach Struckmann (1905) bei *Strongylus filaria* zwei der gebogenen Chromosomen sich parallel zusammenlegen, worauf ein nicht durchgeführter Querspalt auftritt; während Kühtz (1913) bei Sclerostomum-Arten des Pferdes zu Anfang einheitliche Chromosomen beschreibt, aus denen dann erst durch eine Quer- und eine Längsspaltung die Tetraden entstehen. Die Konjugation müßte also schon vorher vollzogen sein.

Wie diese Übersicht zeigt, neigt also die Mehrzahl der Forscher, die in den letzten Jahren diesem Problem nachgegangen sind (Boveri, Hertwig, Tretjakoff, Saedeleer), zu der Ansicht, daß auch die *megalocephala*-Tetrade durch Parallelkonjugation zweier längs gespaltener Chromosomen entsteht. Ich glaube nun in meinem Dyaden-Material eine weitere Stütze für diese Auffassung liefern zu können. Denn die weitaus nächstliegende und einfachste Erklärung dieser Abnormität scheint mir die zu sein, daß die vier Dyaden die vier längsgespaltenen Keimzellenchromosomen darstellen, bei denen es aus irgend einem Grunde nicht zur Konjugation gekommen ist. Die einzige, sonst noch mögliche Vorstellung wäre, daß die Dyadenelemente konjugierten Elementarchromosomen im Sinne Schneiders entsprächen. Aber erstens sind diese Elementarchromosomen eine unbewiesene Annahme und zweitens müßte man dann, um sich die Tetradenentstehung vorzustellen, doch noch eine Vereinigung je zweier Dyaden, also wiederum eine Konjugation annehmen. Oder man müßte von jedem Dyadenschenkel noch eine Längsspaltung erwarten, und die Vierzahl der Dyaden müßte durch eine frühzeitige, abnorme, doppelte Querteilung erklärt werden, wo nur eine einmalige Teilung hätte erfolgen sollen. Dies wären aber äußerst gezwungene und darum unwahrscheinliche Annahmen, und außerdem entspricht ein Dyadenschenkel seiner Dicke und Chromatinmenge nach einem und nicht zwei Stäbchen einer normalen Tetrade. In unserem Falle sind also wohl nur deshalb keine Tetraden vorhanden, weil die Dyaden sich nicht, wie es sonst üblich ist, paarweise miteinander vereinigt, d. h. weil sie nicht konjugiert haben.

Tretjakoff (1905b) gibt seinen in der Einleitung besprochenen Befunden die gleiche Deutung. Er bezeichnet die von ihm beschriebenen Dyaden (diesen Ausdruck benutzt Tr. nicht) als die vier längsgespaltenen »doppelwertigen« Chromosomen, bei denen es nicht zu einer Konjugation

gekommen ist. A. und K. Schreiner (1904) beschreiben ebenfalls als wichtigen Beweis für die Parallelkonjugation einige abnorme Zellen, in denen die Parallelverschmelzung der Fäden nicht oder nur teilweise zustande gekommen ist.

Tretjakoffs Auffassung von der Doppelwertigkeit der *Ascaris*-Chromosomen habe ich oben S. 598 besprochen. Ich möchte bemerken, daß ich zwar aus meinem Material keine Stütze für diese Ansicht beibringen kann, wenn auch einige Beobachtungen, wie das gelegentliche Zerbrechen einer großen Dyade in zwei gleiche Teile sich so deuten ließen.

Wenn wir also die Dyaden als die vier ursprünglichen, längs gespaltenen, nicht konjugierten Chromosomen auffassen, so könnte noch die Frage entstehen, ob dies ein primärer oder ein sekundärer Zustand ist. Im letzteren Falle müßte man annehmen, daß schon Tetraden vorhanden waren, diese aber dann aus irgend einem Grund ohne entsprechende Kern- und Zellteilung in Dyaden zerfallen wären. Das Chromatin befände sich dann schon in einem Zustand, wie er dem Anfang der zweiten oder dem Ende der ersten Reifungsteilung entspricht, und zwar zu einer Zeit, wo Kern und Plasma noch auf dem Keimbläschenstadium stehen. Ich halte diese Annahme nicht für wahrscheinlich. Man dürfte dann auch erwarten, wenigstens ab und zu einer noch unzerlegten Tetrade zu begegnen. Das ist aber nicht der Fall, sondern sobald das Chromatin in dem Keimbläschen überhaupt analysierbar ist, erscheint es in vier zweiteiligen Portionen angeordnet. Man darf darum wohl annehmen, daß es hier niemals zu einer Tetradenbildung gekommen ist. Außerdem glaube ich, daß die lockere Struktur und die größere Länge der Chromosomen viel eher darauf hindeuten, daß sie gegenüber dem normalen Verhalten in ihrer Entwicklung zurückgeblieben sind, als daß sie ein so beträchtliches Stück vorausgeeilt wären. Auf den Vorbereitungsstadien zur ersten Reifungsteilung zeigen die Dyaden oft ähnliche Bilder wie die Chromosomen eines ausklingenden Strepsinemas. Sie machen zuweilen einen ähnlichen Eindruck wie die erwähnte Saedeleersche Fig. 127, die eine junge Oocyte nach dem Wachstumsstadium darstellt und vier deutliche Dyaden zeigt, die um eine gemeinsame zentrale Chromatinmasse gruppiert sind.

Man könnte im Anschluß hieran die Vermutung aufstellen, daß vielleicht die ganzen Form- und Größenunterschiede der Dyaden nur ein Ausdruck der verschiedenen Entwicklungsstufen wären, auf denen sie sich befinden. Die beiden kleineren Dyaden wären dann als die älteren anzusehen, bei denen schon eine weitgehende Kontraktion stattgefunden hat, während diese bei den beiden großen noch nicht eingesetzt hätte. Zum Teil

ist dies vielleicht richtig, und die kleine dickere und dichtere Dyade würde gut zu dieser Annahme passen. Aber die zweite kleine Dyade verhält sich schon anders und läßt sich nicht als ein fortgeschrittener Kontraktionszustand auffassen. Und dann glaube ich doch, daß eine so starke Verkürzung der großen Dyaden bis etwa auf das Maß der kleinen kaum angenommen werden kann. Vor allem aber sind die Strukturdifferenzen zwischen den großen und kleinen Dyaden durchaus nicht immer zu konstatieren, sondern nicht selten sieht man an allen Vieren trotz der gewohnten Längendifferenz die gleiche körnige, lockere Struktur. Wir werden also sagen dürfen, daß die Größenunterschiede der vier Dyaden nicht oder nur zum kleinen Teil verschiedene Phasen einer fortschreitenden Kontraktion darstellen, sondern daß sie durch die festen ererbten Eigentümlichkeiten der einzelnen Elemente bedingt sind.

Wenn also die Dyaden die vier ursprünglichen nicht konjugierten Chromosomen sind, so müssen zwei von ihnen väterlicher und zwei mütterlicher Herkunft sein, und es gibt naturgemäß zwei Möglichkeiten, wie man sich diese Kombination entstanden denken kann.

Entweder man sagt: die zwei unter sich annähernd gleichen Chromosomen sind gemeinsamer Abkunft, also das kleine Paar stammt von einem der Eltern und das große vom anderen. Denn wenn auch die zwei Chromosomen, die ein Elter beisteuert, vielleicht qualitativ verschieden sind, so sind doch so enorme quantitative Differenzen, wie zwischen einer großen und einer kleinen Dyade, in ein und demselben Tier, nach allem, was wir sonst von *Ascaris* wissen, sehr unwahrscheinlich. Dann hätte also je eine große mit einer kleinen Dyade konjugieren sollen.

Oder man sagt: nachdem wir für so viele Fälle wissen, daß bei Größenverschiedenheiten der Chromosomen jedem mütterlichen Chromosoma ein entsprechend großes väterliches gegenübersteht, muß es auch für *Ascaris* als wahrscheinlich gelten, daß je ein großes und ein kleines von einem Elter stammen, und daß die zwei großen hätten normaler Weise miteinander konjugieren sollen und ebenso die zwei kleinen. Ein einziges Mal fand ich ein Bild, das vielleicht einer solchen Auffassung günstig erscheinen könnte. In Fig. 31, Taf. XXXVIII sieht man oben die beiden kleinen Dyaden, und darunter ein merkwürdiges Gebilde, in dem die beiden großen Dyaden enthalten sein müssen, obwohl sich nicht entscheiden läßt, wie deren Orientierung zu denken ist. Nimmt man an, daß bei × × die vier Endpunkte liegen, so könnte man die untere Stelle, wo die beiden Schenkel eine Strecke weit im Kontakt stehen, als Konjugationsversuch deuten.

Ich glaube aber eher, daß es sich um eine zufällige Abnormität handelt, zumal schon das Stadium der ersten Richtungsspindel erreicht ist. Außerdem ist, wie gesagt, dies der einzige Fall, der sich in diesem Sinne verwerten ließe.

Diese zweite Annahme würde auch den Befunden MONTGOMERYS (1908) entsprechen, der eine konstante Größendifferenz der Chromosomen jedes Vorkerns bei *Asc. meg.* beschrieben hat. Bei ihm sind indessen die Unterschiede relativ gering[1]). Die sehr starke Differenz in unserem Falle stellt ohne Zweifel eine äußerst seltene Ausnahme dar, und es erscheint schon deshalb äußerst unwahrscheinlich, daß beide Eltern diese gleiche Abweichung in ungefähr gleichem Maße zeigen sollten. Deswegen halte ich die erste Annahme für weit wahrscheinlicher. Ich habe daraufhin an Eiern normaler Weibchen nach Tetraden mit paarweise sehr ungleich langen Stäbchen gesucht. So große Unterschiede wie etwa zwischen einer großen und einer kleinen Dyade der Fig. 3, Taf. XXXVIII sah ich nie. Einige Male, wenn auch sehr selten, fand ich aber doch sehr erhebliche Differenzen. In Fig. 32, Taf. XXXVIII ist ein solcher Fall abgebildet. Es scheint also prinzipiell der Konjugation verschieden langer Chromosomen nichts im Wege zu stehen. Entsprechend starke Größenunterschiede zwischen den beiden ganzen Tetraden einer Oocyte, wie sie nach der zweiten Annahme möglich sein müßten, konnte ich nicht beobachten.

Zur Erklärung des Ausbleibens der Konjugation in unserem Falle lassen sich verschiedene Annahmen machen. Vielleicht hat das Plasma der Oocyte irgendwie hemmend gewirkt. Vielleicht war auch die gegenüber dem Normalen offenbar etwas zurückgebliebene Entwicklung des Chromatins der Grund, und die Chromosomen waren auf ihrem Strepsinema-ähnlichen Zustand noch nicht reif zur Konjugation. Es ist möglich, daß solche Einflüsse mitgespielt haben. Die Hauptursache aber liegt, wie ich glaube, an anderer Stelle. Da die beiden merkwürdigen Erscheinungen, der auffallende Größenunterschied und das Ausbleiben der Konjugation, sonst bei *Asc. meg.* nie beobachtet worden sind, scheint es mir sehr wahrscheinlich, daß ein innerer Zusammenhang zwischen beiden Erscheinungen besteht. Die Chromosomen der beiden Elternindividuen scheinen nicht »homolog genug« gewesen zu sein, d. h. es bestanden entsprechend der starken äußeren Größendifferenz so weitgehende innere Verschiedenheiten, daß dadurch die Konjugation verhindert wurde.

---

[1]) Bei anderen Tieren sind Unterschiede zwischen den Chromosomen eines Kerns im Verhältnis von 1:2, auch 1 : 3 nicht selten, z. B. *Sphaerechinus* (BALTZER, 1911).

»Postreduktion?«

Noch zu einer anderen Betrachtung fordern die mitgeteilten Beobachtungen auf. Die normale Eireifung von *Asc. meg.* bietet keinerlei Handhabe zur Entscheidung der Frage, ob die erste oder die zweite Teilung die Reduktionsteilung ist. Denn die vier Elemente der Tetraden sind, wenn man diesen Ausdruck hier gebrauchen will, radial-symmetrisch angeordnet, so daß man nicht, wie in anderen Fällen, zwischen einer Konjugations- und einer Spaltungsebene unterscheiden kann. Unser Dyadenmaterial schien mir nun zunächst eine gewisse Stellungnahme zu dieser Frage zu gestatten. Wir sahen, daß in der ersten Reifungsteilung die Dyaden geteilt werden, d. h. die Chromosomenspalthälften werden getrennt oder die Teilung verläuft äquationell, während die zweite Teilung, soweit es hier überhaupt zu einer regulären Chromosomenverteilung kommt, eine Reduktionsteilung sein würde. Tretjakoff glaubt in der Tat seine erwähnten Beobachtungen an den abnormen Spermatocyten in diesem Sinne verwerten zu können. Hier ordnen sich auch die längsgespaltenen Elemente in der Äquatorialplatte der ersten Reifungsteilung so an, daß die Spalthälften getrennt werden, und Tretjakoff faßt deshalb die erste Teilung als eine Äquations-, die zweite als Reduktionsteilung auf[1]). Obwohl dieser Schluß nun wohl für unseren abnormen Fall selbst zulässig ist, glaube ich doch nicht, daß ihm eine Beweiskraft zukommt. Denn ich fand, wie erwähnt, zuweilen auch in der II. Richtungsspindel noch ungeteilte Dyaden, was wohl allerdings eine Abnormität ist. Ein wichtigerer Einwand aber ist folgende Überlegung. Der Teilungsapparat einer Zelle fungiert offenbar so, daß er diejenige Chromosomenverteilung vollzieht, die möglich ist, d. h. in unserem Falle so, daß die Dyadenhälften getrennt werden. Sind zwei Teilungsmodi gleich möglich, dann stellen sich die Chromosomen wahrscheinlich bei der ersten Teilung beliebig ein. Demnach wäre eine Entscheidung dieser Frage auch mit Hilfe unseres Dyadenfalles nicht möglich.

Die zweite Reifungsteilung.

In dem Wesen des Teilungsmechanismus liegt nun gleichzeitig auch der Schlüssel zum Verständnis der abnormen Chromatinverteilung bei der Bildung des II. Richtungskörpers in unserem Material. Es ist von vornherein nicht einzusehen, warum diese Eier nicht einen im Prinzip

[1]) Nach Tretjakoffs Angaben sind indessen in der II. Teilung auch wieder zweiteilige Elemente vorhanden durch die höchst merkwürdigen Umgruppierungen, die er beschreibt (s. S. 3) und die mir durchaus unverständlich sind.

ganz normalen Reifungsvorgang durchmachen sollten. Sie sind im allgemeinen gesund, besitzen den normalen Chromatinbestand, nur in ungewohnter Anordnung, und dessen normale Verteilung erscheint zunächst durchaus möglich. In seltenen Fällen sahen wir sie ja auch tatsächlich eintreten.

An den meisten Keimen aber traten von der II. Richtungsspindel an Unregelmäßigkeiten in der Chromatinverteilung auf. Hier also scheint die Schwierigkeit zu liegen. Und in der Tat sehen wir den Teilungsmechanismus der Eizelle hier vor die Aufgabe gestellt, vier selbständige Chromosomen, die nicht mehr miteinander zusammenhängen, und die nicht mehr bestimmt sind sich zu teilen, nach zwei verschiedenen Richtungen hin zu dirigieren. Dies ist aber nach allem, was wir von den karyokinetischen Prozessen wissen, ein unlösbares Problem. Nur in einzelnen Fällen wird daher bei diesem Material durch zufällige Verteilung das erreicht, was im Normalfalle der Teilungsapparat besorgt.

Hier wäre Gelegenheit zu dem sog. »Primärtypus«, wie GOLDSCHMIDT (1905) die Reduktionsart, die er bei der Eireifung von *Zoogonus mirus* gefunden zu haben glaubte, bezeichnete. Danach würden, ganz dem WEISMANNschen Schema entsprechend, in einer der Reifungsteilungen ganze Chromosomen verteilt werden. Diese Angaben haben sich inzwischen als irrig herausgestellt (WASSERMANN, 1913). Ein so einfacher Reduktionsvorgang scheint nirgends vorzukommen. Wir sahen, daß auch in unserem Falle nichts Derartiges eintritt, sondern die Chromosomen geraten zufällig hierhin und dorthin. Der Teilungsapparat weiß mit ihnen sozusagen nichts anzufangen. Interessant ist hier wieder die Unabhängigkeit der achromatischen von den chromatischen Vorgängen, die BOVERI schon 1888 als »Dualismus der karyokinetischen Phänomene« betont hat. Das Ei bildet in der durch zahllose Generationen vererbten Weise seine zwei Richtungsspindeln, obgleich für die zweite eigentlich nichts mehr zu tun ist.

So wäre also im letzten Grunde doch das Ausbleiben der Konjugation die Ursache der abnormen Chromatinverteilung, und zwar zunächst nicht aus physiologischen Gründen (deren Vorhandensein damit nicht geleugnet sein soll), sondern aus teilungsmechanischen Rücksichten. Die Konjugation erscheint notwendig, um auch für die zweite Reifungsteilung »zweiteilige« Elemente zu schaffen, deren Hälften dann auseinander bewegt werden können.

Ähnliche Fälle.

In der Literatur finden sich bisher nur zwei Angaben über ausbleibende Chromosomenkonjugation in den reifenden Geschlechtszellen. Beide

Arbeiten beschäftigen sich mit Bastarden zwischen nahe verwandten Arten, bieten aber trotzdem gewisse Vergleichsmomente mit unserem Material.

Rosenberg (1904) untersuchte bei einem pflanzlichen Bastard, *Drosera longifolia* × *Dr. rotundifolia*, die Entwicklung der Pollenzellen. Die haploide Chromosomenzahl der einen Elternart beträgt 20, die der andern 10; dementsprechend enthalten die somatischen Zellen des Bastards 30 Chromosomen. In der ersten Reifungsteilung treten aber immer 20 Chromosomen auf, und zwar 10 große Doppelchromosomen und 10 kleine einfache. Die großen werden in beiden Teilungen richtig geteilt, die kleinen unregelmäßig verteilt; schon bei der ersten Teilung bleiben einige, bei der zweiten die meisten im Plasma liegen und degenerieren dann, so daß die reifen Pollenzellen meist nur 10, zuweilen 11 oder 12 Chromosomen enthalten. Die Erklärung liegt nahe: von den 20 Chromosomen der einen Art haben 10 mit den 10 der anderen Art konjugiert, was auch durch die an den Doppelchromosomen noch deutliche verschiedene Größe der beiden Komponenten bewiesen wird; die andern 10 sind übriggeblieben, da sie keinen Partner fanden. Diese 10 übrigbleibenden Chromosomen teilen sich nicht mehr, obwohl man eine einmalige Teilung auch von ihnen erwarten sollte. Die Konjugation scheint hier also als Anregung zu weiterer Teilung nötig zu sein, vielleicht auch überhaupt eine notwendige Bedingung für die weitere Lebensfähigkeit des Chromosoms darzustellen.

Die interessante Parallele zu unserem Fall liegt darin, daß auch hier der Teilungsapparat diesen ganzen, sich nicht mehr teilenden Chromosomen gegenüber sich ohnmächtig erweist und ihre richtige Verteilung nicht zustande bringt. Sie werden regellos hierhin und dorthin gezogen und bleiben schließlich meist auf halbem Wege liegen, ohne in die Tochterkerne zu gelangen.

Wesentlich andre Resultate ergaben die schönen Untersuchungen von Federley (1913, 1914), dem es gelang, primäre und sekundäre Bastarde zwischen verschiedenen Schmetterlingsarten, *Pygaera anachoreta*, *curtula* und *pigra*, zu züchten und ihre Spermatogenese zu verfolgen. Es zeigte sich, daß in den primären Bastarden (z. B. *Pyg. curt.* ♂ (haploide Chromosomenzahl 29) × *P. anach.* ♀ (30) entweder gar keine Konjugation zwischen den artfremden Chromosomen stattfand, oder daß nur einzelne Chromosomenpaare (1—5) konjugierten. Dementsprechend trat keine oder nur eine teilweise Reduktion ein, und die meisten Spermatocyten besaßen 59 (30 + 29) Chromosomen, die nach Federley in beiden Reifungsteilungen äqual geteilt werden sollen. Allerdings verläuft die zweite

Teilung meist anormal. In den Spermatocyten des sekundären Bastards, einer Rückkreuzung mit dem einem Elter (F_1 ♂ × P ♀), konjugierten die artgleichen väterlichen und mütterlichen Chromosomen, hier also die zweimal 30 *Anachoreta*-Chromosomen, während die 29 *Curtula*-Chromosomen als solche weiter bestanden. Hier sind also nach der Konjugation ebenfalls 59 Chromosomen vorhanden, davon aber 30 bivalente und 29 univalente. Alle sollen wiederum in beiden Teilungen geteilt werden, wobei die Mehrzahl der Spermatiden wieder pathologisch wird.

Es hat sich also gezeigt, daß unter den artfremden Chromosomen in den Bastarden meistens keine Konjugation eintrat, während die artgleichen Chromosomen unter den gleichen Bedingungen sämtlich konjugierten. Man wird nicht fehlgehen, wenn man innere Verschiedenheiten, wie sie zwischen den Chromosomen verschiedener Arten zu erwarten sind, für den mangelnden Konjugationstrieb verantwortlich macht. Mir scheint dies eine Stütze zu sein für die oben gegebene Erklärung der Dyaden. Denn obwohl es sich bei Federley um einen Bastard handelt, die vier Dyaden in meinem Fall dagegen sicher alle *megalocephala*-Chromosomen sind, so darf man, wie ich denke, doch für die in beiden Fällen gleiche Erscheinung auch die gleiche Entstehung annehmen. Ist es doch auch nicht undenkbar, daß selbst in der Varietät *Asc. meg. bivalens* bereits weitere Divergenzen eingetreten sind, die in der verschiedenen Länge und der gegenseitigen Konjugationsabneigung der Reifungs-Chromosomen einen cytologischen Ausdruck gefunden hätten.

II. Teil.

Über Geschlechtschromosomen bei Ascaris megalocephala.

Einleitung. Literatur.

Durch die Arbeiten von Boveri, Boring, Edwards, Gulick, Schleip, Mulsow, Kühtz und Krüger sind für eine Reihe von Nematoden die Beziehungen zwischen Chromatin und Geschlecht klar gelegt worden. Sie folgen alle, zum Teil schematisch deutlich, dem Wilsonschen Typus *Protenor*. Größere Schwierigkeiten bereitete in dieser Beziehung nur *Ascaris megalocephala*, gerade das Objekt, dem es sonst beschieden war, als erster und oft schönster Fall einer Reihe fundamentaler Tatsachen der Eireifung und Befruchtung beschrieben zu werden.

Es liegen jetzt schon eine Reihe von Beobachtungen über kleine akzessorische Chromosomen in Reifungs- und Furchungsteilungen von *Ascaris megalocephala* vor, die von einigen Autoren als Geschlechtschro-

mosomen, von andern als zufällige Bruchstücke gedeutet wurden. Boveri (1889) sah gelegentlich neben den gewohnten Tetraden zwei kleine, stark färbbare, rundliche Körnchen in den Keimbläschen. 1908/09 hat er in den Furchungsstadien der Eier eines Wurmes sehr häufig ein überzähliges kleines Element gefunden. Miss Boring (1910) hat dann dieses und ähnliches Material eingehender bearbeitet. Auf Grund ihrer und seiner eigenen Befunde hat Boveri in seinem in Anschluß an die Boringsche Arbeit veröffentlichten Aufsatz an der Hand des wenigen Bekannten, sowie theoretischer und vergleichender Betrachtungen, ein hypothetisches Bild der Geschlechtsbestimmung bei *Ascaris megalocephala* entworfen. Er deutet das von ihm und Boring gefundene »small chromosome« als ein richtiges Geschlechtschromosom, und nimmt an, daß auch bei *Ascaris megalocephala* die ♀ durch 2 X, die ♂ durch 1 X charakterisiert seien, daß also alle Eier 1 X, die Spermatozoen zur Hälfte 1 X, zur Hälfte kein X besäßen. Daß diese X-Chromosomen sich bisher der Beobachtung so hartnäckig entzogen, erklärt Boveri dadurch, daß sie typischerweise mit den großen Autosomen verbunden sind und nur in seltenen Fällen diesen Zusammenhang lösen und als selbständige Gebilde auftreten. Ein solcher Fall hat wohl ohne Zweifel auch Zacharias (1912) vorgelegen, der in den Oocytenkernen zwei kleine »chromatophile Körperchen« oder »Parachromosomen« fand.

Die Boverischen Annahmen sind nun in der Folge mehrfach bestätigt worden. Zunächst hat Edwards (1910) bei einer Untersuchung der Spermatogenese von *Ascaris megalocephala* bei zwei Individuen (unter 45 untersuchten) ein selbständiges X-Chromosoma gefunden, welches in einer der Reifungsteilungen ungeteilt in die eine Tochterzelle übergeht, und so in der Tat nur in die Hälfte der Spermatozoen gelangt. Dann hat Frolowa (1912) beim Studium der Oogenese von 13 Individuen von *Ascaris megalocephala bivalens* mehrmals neben den beiden großen Tetraden selbständige »Idiochromosomen« gefunden und ihr Schicksal während der Reifungsteilungen verfolgt.

Im Folgenden soll nun kurz über eine Untersuchung berichtet werden, die zu ganz ähnlichen Ergebnissen führte, wie die letztgenannte Arbeit. Es könnte zweifelhaft erscheinen, ob die Veröffentlichung solcher Befunde, die nichts prinzipiell Neues bieten, berechtigt ist. Aber einerseits ergaben sich doch einige interessante Unterschiede, andererseits ist wohl die Bestätigung solcher Angaben über lange Zeit strittige Erscheinungen immer erwünscht, zumal dadurch der Einwand widerlegt wird, es könne sich um eine zufällige Unregelmäßigkeit handeln, nicht um eine feste Gesetzmäßigkeit.

Material und Methode.

Ein großer Teil der Untersuchung wurde an den Eiern einer *Ascaris megalocephala bivalens* vorgenommen, die mir ebenfalls Herr Geheimrat Boveri freundlichst zur Verfügung stellte. Außerdem wurden noch 25 weibliche *Asc. meg. biv.* und 4 *Asc. meg. univ.* untersucht. Die Heterochromosomen fanden sich nur bei drei Bivalens-Exemplaren, und zwar bei zweien von diesen mit absoluter Regelmäßigkeit in jeder der zahllosen untersuchten Oocyten. Von dem dritten Tier, das ich der Freundlichkeit des Herrn Dr. von Ubisch verdanke, der es zu einem andern Zwecke fixiert hatte, konnte ich nur junge, noch unbefruchtete Oocyten untersuchen. Sie zeigten zwar meist keine klaren Bilder. zuweilen aber doch deutlich die gleichen Verhältnisse, wie die beiden andern.

Die Eiröhren wurden fixiert in schwachem Alkohol-Eisessig-Gemisch (95 Teile 70%iger Alk. + 5 Teile Eisessig), Pikrinessigsäure, in Bouins, Zenkers und Carnoys Gemisch. Die Untersuchungsmethoden waren die gleichen wie die im ersten Teil beschriebenen.

Beschreibung.

Keimbläschenstadium.

Sobald in den noch unbefruchteten Oocyten 1 die Chromosomen des Keimbläschens als zwei deutliche Tetraden kenntlich werden, gewahrt man außer diesen stets noch zwei kleine, mehr oder weniger kugelige Gebilde, die ganz den Eindruck von Heterochromosomen machen (Fig. 33, Taf. XXXIX). Ihrer Färbbarkeit und körnigen Struktur nach bestehen sie ohne Zweifel ebenfalls aus Chromatin, und sind auch von dem homogen aussehenden, glatt konturierten Nucleolus leicht zu unterscheiden. An den Boraxkarminpräparaten war übrigens der Nucleolus fast nie deutlich sichtbar.

Die beiden kleinen Elemente liegen dicht zusammen oder doch nur in geringer Entfernung voneinander und sind wie die Tetradenstäbchen durch eine achromatische Brücke verbunden, bilden also eine Dyade (Fig. 33, 34, Taf. XXXIX). Von den Tetraden sind sie in der Mehrzahl der Fälle getrennt (Fig. 33), können aber durch achromatische Fäden mit einer von diesen in Verbindung stehen (Fig. 34). Zuweilen sieht man sie auch wie zwei kleine Köpfchen den Enden zweier Stäbchen einer Tetrade aufsitzen (Fig. 35, Taf. XXXIX).

Vereinzelt fand ich Bilder, die man als X-Tetrade deuten könnte, sah aber nur einen einzigen völlig einwandfreien Fall. Er ist in Fig. 36, Taf. XXXIX abgebildet und entstammt dem dritten Wurm, von dem ich keine späteren Stadien besitze. Das Bild erinnert sehr an das im I. Teil

besprochene und in Fig. 5, Taf. XXXVIII wiedergegebene Tetraden-ähnliche Stück und an die Abbildungen von Brauer und Sabaschnikoff. In diesem Falle glaube ich sicher nicht, daß ein Bruchstück vorliegt, sondern ein von vornherein selbständig gebliebenes Element, und zwar kein beliebiges, sondern das X-Element, das auch in allen anderen Oocyten auftritt, nur eben fast stets als Dyade. Wie diese, selbst unter Einrechnung der zweifelhaften Fälle höchst seltenen Ausnahmen zu deuten wären, soll weiter unten erörtert werden.

Erste Reifungsteilung.

Während der Reifungsteilungen zeigt das kleine Doppelchromosoma insofern ein merkwürdiges Verhalten, als sich eine ganz konstante Gesetzmäßigkeit nicht aufzeigen ließ. Die Verteilung der beiden Hälften zeigt, wenn auch in verschiedener Häufigkeit, alle Kombinationen, die bei der Aufteilung von zwei Körpern auf drei Plätze möglich sind; d. h. der erste und der zweite Richtungskörper und der weibliche Vorkern können jeder je zwei, ein oder gar kein X erhalten. Wir werden bei der Besprechung der Befunde auf dieses merkwürdige Verhalten zurückkommen. Hier sollen zunächst die verschiedenen Fälle, sowie ihre relative Häufigkeit kurz beschrieben werden.

In der ersten Richtungsspindel liegen die zwei X-Elemente frei zwischen oder neben den Tetraden (Taf. XXXIX Fig. 37—39). Durch ihre regelmäßige Stellung lassen sie oft schon deutlich erkennen, daß das eine mit in den ersten Richtungskörper wandern, das andere im Ei zurückbleiben wird. Dies ist in der Tat der häufigste Fall (Taf. XXXIX Fig. 40). Daneben kommt es indessen nicht selten vor, daß beide Elemente im Ei verbleiben, oder daß beide in den ersten Richtungskörper abgegeben werden (Taf. XXXIX Fig. 41, 42).

Zweite Reifungsteilung.

Dementsprechend findet man in der zweiten Richtungsspindel meistens ein, seltener zwei oder gar kein X (Taf. XXXIX Fig. 43—48). Stets aber sind im ersten Richtungskörper und in der zweiten Richtungsspindel zusammengenommen nur zwei Elemente vorhanden. Die Verteilung ist wieder verschieden. Ist nur mehr ein X übrig (Fig. 43), so verbleibt es dem Ei (Taf. XXXIX Fig. 52) oder gelangt in den zweiten Richtungskörper (Taf. XXXIX Fig. 53). Sind noch beide vorhanden, so werden sie meist gleich verteilt (Taf. XL Fig. 61), selten geraten beide ins Ei (Taf. XXXIX Fig. 54), noch seltener beide in den zweiten Richtungskörper (Taf. XXXIX Fig. 55). Durch diese Unregelmäßigkeiten kommt es also vor, daß keines von den beiden X-Elementen in das reife

Ei gelangt, indem sowohl beide in den ersten Richtungskörper (Fig. 45, 46) wie auch in den zweiten (Fig. 55), oder auch je eines in jeden (Taf. XXXIX Fig. 56) abgegeben werden kann. In ihrer Gesamtheit sind diese Fälle sogar in der Überzahl. Sieht man aber von den Fällen, wo beide X-Elemente durch die erste Teilung entfernt werden, ab, so ist es doch das häufigste, daß das reife Ei ein X behält.

Öfter treten in der zweiten Richtungsspindel sehr auffallende Größenunterschiede zwischen den Elementen einer Dyade auf. Frolowa beschreibt auch solche Fälle, fand aber dann keine freien Idiochromosomen. Taf. XXXIX Fig. 50 zeigt eine zweite Richtungsspindel (vom Pol gesehen) mit einem freien X-Element (das andre liegt im ersten Richtungskörper) und einer Dyade mit zwei ziemlich verschieden langen Stäbchen. Die eine Dyade im ersten Richtungskörper, und zwar die rechts gelegene, besteht auch aus zwei verschieden langen Elementen; wenn auch der Unterschied nicht so auffallend ist, so ist doch das tiefer liegende Stäbchen deutlich länger. Man darf wohl annehmen, daß diese beiden Dyaden zusammen die eine Tetrade gebildet hatten, und es ist zu vermuten, daß die beiden freien X-Elemente ursprünglich einmal mit den zwei kürzeren Stäbchen im Zusammenhang gestanden haben, während die beiden längeren sich nicht von ihrem X-Element getrennt haben (s. Besprechung). Geringere Größendifferenzen zwischen den einzelnen Stäbchen finden sich in diesem Material sehr häufig und sind meiner Meinung nach ebenso zu erklären. Doch läßt sich hier immer der Einwand erheben, daß es sich um zufällige Variationen der Chromosomengröße handelt, wie solche wohl ohne Zweifel bei *Ascaris* vorkommen. Bei so auffallenden Differenzen aber, wie in der besprochenen Fig. 50, die ebenfalls nicht selten beobachtet wurden, ist diese Annahme wohl nicht aufrecht zu erhalten. Taf. XXXIX Fig. 51 zeigt sehr deutlich die gleichen Verhältnisse an einem ersten Richtungskörper.

Die Stellung der Heterochromosomen in der zweiten Spindel ist ziemlich variabel. Von Interesse ist, daß sie häufig ganz am äußersten Rande (Taf. XXXIX Fig. 44, 49), ja zuweilen schon fast außerhalb der Spindelfigur stehen, so daß nur noch einige wenige Fasern sie erreichen. Wo noch beide vorhanden sind, sehen wir sie meist von vornherein voneinander getrennt (Taf. XXXIX Fig. 48, 49), selten noch unmittelbar benachbart (Taf. XXXIX Fig. 47). Es hat sich also in den weitaus meisten Fällen die Trennung der beiden Hälften in der ersten Teilung richtig vollzogen, nur hat die eine von beiden den richtigen Weg nicht gefunden.

Hier ist der Ort, einige der abnormen Bilder kurz zu besprechen. Auch in diesem Material fand sich ziemlich häufig der schon im vorigen Abschnitt besprochene Fall, wo kein erster Richtungskörper gebildet

wird. Diese Bilder sind deshalb interessant, weil auch hier die zwei X-Elemente fast stets vollständig von einander getrennt erscheinen (Fig. 58, Taf. XL). nur selten noch in Kontakt stehen (Fig. 57, Taf. XL). Ihr Schicksal ist hier ebenfalls nicht konstant. In den einzigen, in solchen Fällen gebildeten Richtungskörper gelangen ein, zwei oder kein X. und entsprechend in das Ei ein, kein oder zwei X.

In einigen ganz wenigen Fällen beobachtete ich ein von dem beschriebenen abweichendes Verhalten, indem hier vier X-Elemente statt der gewohnten zwei auftraten. Fig. 60, Taf. XL zeigt sie in normaler Verteilung, indem zwei in den ersten Richtungskörper gegangen sind, die beiden andern durch die zweite Teilung getrennt werden. In Fig. 59, Taf. XL sehen wir alle vier in der zweiten Richtungsspindel. Es handelt sich sicher nicht um eine Teilung der sonst auftretenden zwei Heterochromosomen. Denn dann müßten sie entsprechend kleiner sein, sie zeigen aber ganz die gleiche Größe wie die gewohnten zwei. Wir hätten hier also ein Folgestadium des oben erwähnten Ausnahmefalles der X-Tetrade. Ich möchte besonders darauf hinweisen, daß in diesen Fällen die einzelnen Stäbchen einer Dyade keine oder nur ganz geringe Größendifferenzen zeigen, während die beiden Dyaden untereinander z. B. in der zweiten Richtungsspindel der Fig. 60 von auffallend verschiedener Länge sind. Auch in dem ersten Richtungskörper scheint die eine, höher gelegene Dyade kürzer zu sein als die andre, wenn auch hier der Unterschied nicht so deutlich hervortritt. Die beiden kürzeren Dyaden dürften wohl diejenigen sein, zu denen ursprünglich einmal die vier X-Elemente gehört haben (s. Besprechung).

Vorkernstadium und erste Furchungsspindel.

In dem Vorkernstadium sieht man recht häufig neben dem weiblichen Pronucleus ein kleines Extrabläschen von ziemlich konstanter Größe, das wohl sicher aus dem selbständig gebliebenen X-Chromosom entstanden ist (Fig. 61, 62, Taf. XL). Denn es tritt nicht auf, wenn in den Richtungskörpern zwei X-Elemente vorhanden sind (Fig. 55 und 56, Taf. XXXIX), sondern nur, wenn bloß eines abgegeben ist, so daß also im ersten und zweiten Richtungskörper und im weiblichen Vorkern zusammen wiederum immer nur zwei X-Elemente gefunden werden, wenn wir von den besprochenen seltenen Ausnahmen absehen.

Indessen wird nicht immer, wenn ein X-Element ins Ei gelangt, ein selbständiges Kernbläschen gebildet, sondern zuweilen ist auch in solchen Eiern, wo nur ein X abgegeben wurde (an den ersten oder zweiten Richtungskörper), im Vorkernstadium nur ein einheitlicher weiblicher Pronucleus vorhanden, in dem sich das Heterochromosom nicht nachweisen läßt.

Die Äquatorialplatte der ersten Furchungsspindel zeigt, wie zu erwarten, außer den vier großen Chromosomen oft noch ein kleines fünftes (Fig. 63—66, Taf. XL). Die Annahme, es handle sich hierbei um ein erst beim Herausbilden der Chromosomen aus dem Vorkern abgebrochenes Endstück, erscheint bei dem vorliegenden Material von vornherein unwahrscheinlich. Und es läßt sich dem noch einiges Weitere entgegenhalten.

Schon das Vorhandensein des Extrakernbläschens im Vorkernstadium wäre dann unverständlich. Auch ist die Größe des fraglichen Stückes annähernd konstant, und die Konturen zeigen niemals so scharfe Kanten und Bruchstellen, wie sie die echten Fragmente, die ebenfalls zuweilen beobachtet wurden, fast stets besitzen. Fig. 65, Taf. XL zeigt zwei unzweifelhafte Bruchstücke und ein »Heterochromosom« in derselben Äquatorialplatte, man sieht deutlich den Unterschied in Größe, Form und Habitus. Wäre wirklich das kleine Chromosom ein abgebrochenes Endstück eines der großen, so müßte irgend eines der acht freien Chromosomenenden sich von den übrigen durch das Fehlen der kolbigen Anschwellung unterscheiden, wie es die Bruchstellen des zerbrochenen Chromosoms der Fig. 65 deutlich zeigen. Ich konnte indessen nichts Derartiges beobachten, sondern wo überhaupt die Endanschwellungen deutlich ausgeprägt waren, fand ich sie an allen Enden gleichmäßig ausgebildet, auch dann, wenn ein freies Heterochromosom vorhanden war (Fig. 63, 64, Fig. XL).

Zuweilen sieht man die kleinen Chromosomen abseits von den übrigen und ganz außerhalb der Spindel liegen (Fig. 64, 68, Taf. XL). Fig. 66, Taf. XL zeigt eine erste Furchungsspindel mit sechs großen Chromosomen und dem kleinen Element. Es ist eines von den Eiern, die nur einen Richtungskörper gebildet haben, ein Folgestadium der Fig. 57, Taf. XL.

In seltenen Fällen treten zwei solche Extrachromosomen auf, und zwar dann immer von annähernd gleicher Größe (Fig. 67, 68, Taf. XL). Mehr als zwei fand ich nie. Bruchstücke dagegen trifft man gelegentlich auch in größerer Anzahl und dann meist von verschiedener Größe. Man könnte meinen, in den Eiern mit zwei kleinen Chromosomen »Weibcheneier« vor sich zu haben, in die also das eine X durch das Spermatozoon eingeführt wäre. Das trifft indessen hier nicht zu. Sondern beide X-Elemente sind nach Ausweis der Richtungskörper weiblicher Herkunft. Fig. 68, Taf. XL stellt also ein Folgestadium von Fig. 54 (Taf. XXXIX) dar und gehört, wie aus der Abbildung deutlich hervorgeht, zu den seltenen Fällen, wo weder in den ersten, noch in den zweiten Richtungskörper ein X abgegeben wurde, sondern beide dem Ei verblieben. Wäre wirklich eines männlicher Abkunft, dann müßte dieser Fall viel häufiger auftreten, als es tatsächlich vorkommt, denn dann müßten, auf Grund

der Edwardsschen Befunde in der Spermatogenese, etwa die Hälfte aller befruchtenden Spermatozoen das X-Element besitzen. Die untersuchten Eier sind also von Männchen ohne freie Heterochromosomen befruchtet worden, deren Auftreten ja auch in der Spermatogenese eine große Seltenheit ist. Es könnte natürlich doch in einzelnen Spermatozoen ein freies X vorkommen. Aber dies scheint mir aus den genannten Gründen sehr unwahrscheinlich.

Frolowa allerdings macht für ihre Fälle diese Annahme. Sie beschreibt auch bei den freien, wie den ins Ei eingedrungenen Spermatozoen gelegentlich ein freies Idiochromosom, was ich nie gefunden habe. Immerhin ist der Prozentsatz der ersten Furchungsspindeln mit zwei X-Chromosomen auch bei ihr viel zu gering. Unter 55 im »Monasterstadium«[1]) durchgesehenen Eiern fand sie 23 mit nur vier großen Chromosomen, 7 mit je 2, 15 mit je einem Idiochromosom.

Bei einem Vergleich meiner sonstigen Befunde mit den Resultaten der Frolowaschen Arbeit fiel es mir auf, daß dort als Regel geschildert wird, was ich nur in äußerst seltenen Fällen beobachten konnte. Sie beschreibt in den jungen Oocyten I zwei Idiochromosomen, die öfter bivalent erscheinen, manchmal eine »unzweifelhafte Tetrade« bilden (S. 157). In der ersten und zweiten Reifungsteilung werden sie geteilt (S. 158/59), wie eine normale Tetrade, zeigen also ganz das theoretisch postulierte Verhalten. Trotzdem scheint mir eine genaue Betrachtung ihrer Abbildungen darauf hinzudeuten, daß es sich um die gleichen Vorgänge handelt, wie in meinem Material. Denn abgesehen von den ziemlich undeutlichen X-Tetraden der Keimbläschen sind nur ein einziges Mal wirklich vier selbständige Idiochromosomen (davon indessen eines ganz klein und undeutlich) gezeichnet (Fig. 3b), auf einem als erste Richtungsspindel bezeichnetem Stadium, das aber offenbar eine der abnormen zweiten Richtungsspindeln darstellt, wo kein erster Richtungskörper gebildet wurde. Auf allen andern Bildern sind immer nur zwei Heterochromosomen dargestellt. Diese trennen sich entweder in der ersten oder zweiten Reifungsteilung von einander. Im letzteren Falle zeigt der erste Richtungskörper, wo er überhaupt gezeichnet wurde, keine Idiochromosomen. Wo andererseits die Heterochromosomen mit einer der großen Tetraden verbunden sind, da besteht diese Verbindung, wo sie deutlich gezeichnet

[1]) Den alten irreführenden Ausdruck »Monaster« für »Äquatorialplatte« sollte man übrigens endlich vermeiden, aus sachlichen Gründen wie auch aus Prioritätsrücksichten. Denn Fol hat als erster den Ausdruck »Aster« angewandt, als Bezeichnung für die Sphäre, und Flemming hat ihn dann später ohne Rücksicht hierauf mit der völlig anderen und unpassenden Bedeutung verwandt.

wurde (Fig. 13a), nur mit zweien der vier Stäbchen (vgl. meine Fig. 2, 3, Taf. XXXVIII), so daß eine Teilung des einzelnen X-Elementes ganz unverständlich wäre.

Frolowa ist allerdings anderer Meinung. Sie schreibt bei Besprechung der zweiten Richtungsspindel (S. 159): »In dem Falle, wenn ein bivalentes Idiochromosom nur an ein Chromosom (gemeint ist ein Tetradenstäbchen) angeschlossen ist (Fig. 5c), muß es sich losreißen und teilen, damit seine Chromatinmenge auf die Hälfte reduziert werde. Dies liegt natürlich vollkommen im Bereich der Möglichkeit (Fig. 7).« Meiner Meinung nach läge ein solches Verhalten »vollkommen außerhalb des Bereichs der Möglichkeit«. Und ich glaube nach alledem annehmen zu dürfen, daß das Frolowasche Material ähnliche oder gleiche Verhältnisse zeigte, wie das meinige.

Besprechung.

Überblickt man die beschriebenen Vorgänge, so läßt sich nicht behaupten, daß eine absolut konstante Gesetzmäßigkeit in ihnen zum Ausdruck kommt. Es sind zwei Punkte, die hier zu erwähnen sind. Zunächst müßte man von einem Element, das allen Eiern in gleicher Weise zukommen soll, erwarten, daß es wie die gewöhnlichen Chromosomen in der Oocyten I als Tetrade auftritt. Dies brauchte nicht morphologisch zum Ausdruck zu kommen, aber das Element müßte in beiden Reifungsteilungen auch wirklich geteilt werden. Beides ist, von den ganz wenigen besprochenen Ausnahmen abgesehen, nicht der Fall. Fast stets sind von vornherein zwei mit einander verbundene Elemente vorhanden, und diese werden nicht geteilt, sondern verteilt. Damit kommen wir auf den zweiten Punkt: diese Verteilung ist keine ganz regelmäßige, sondern zeigt, wenn auch in verschiedener Häufigkeit, alle möglichen Kombinationen. Andererseits ist man bei dem absolut konstanten Auftreten der beiden X-Elemente in allen Oocyten der betreffenden Würmer und bei den mehrfachen älteren Angaben wohl nicht berechtigt, die Erscheinung als bloße Zufälligkeit abzutun.

Mit Hilfe der BovERIschen Annahme, daß normaler Weise die Geschlechtschromosomen (zwei X bei ♀, ein X bei ♂) mit den Autosomen fest verbunden sind, können wir uns den vorliegenden Fall etwa folgendermaßen erklären.

I. Wertigkeit und Herkunft der X-Elemente.

Ein X-Chromosom hat sich ausnahmsweise von dem zugehörigen Autosom getrennt. Wann und aus welchen Gründen diese Ablösung stattgefunden hat, darüber läßt sich nichts Bestimmtes aussagen. Da aber

sämtliche Oocyten eines Tieres das gleiche Verhalten zeigen, muß es sich wohl um eine ererbte Eigenschaft handeln, die schon die Urzelle aller dieser Oocyten besessen hatte.

In den Tetraden der Reifungsteilungen stellen, wie im I. Teil erörtert, höchstwahrscheinlich je zwei der vier verbundenen Stäbchen die Spalthälften eines ursprünglichen Chromosoms dar. Denn sowohl gewisse Befunde, wie auch die Analogie sprechen mit Entschiedenheit dafür, daß auch bei *Asc. meg.* die Tetraden durch Konjugation zweier längsgespaltener Chromosomen, eines väterlichen und eines mütterlichen, entstehen. Darum entsprechen auch die beiden X-Elemente, die ich in allen Oocyten der betreffenden Tiere fand, und die auch Boveri, Zacharias und Frolowa beschrieben haben, den Spalthälften eines X-Chromosoms. Es hat eben in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle nur eines der vier ursprünglichen Chromosomen den Zusammenhang mit seinem X-Chromosom gelöst. Und da eine solche Loslösung ganz allgemein bei *Asc. meg.* eine große Seltenheit ist, so ist die Wahrscheinlichkeit, daß ein väterliches und ein mütterliches Chromosom gleichzeitig diese Eigentümlichkeit zeigen, eine außerordentlich viel geringere, als daß sie nur bei einem auftritt. So ist die große Seltenheit des X-Tetraden (und der vier freien X-Elemente), obwohl sie im Weibchen eigentlich den normaleren Fall darstellen würden, ganz gut verständlich.

Es darf wohl als das weitaus Wahrscheinlichste gelten, daß immer die beiden, die X-Elemente in sich bergenden Chromosomen miteinander konjugieren, gerade weil dies eine Besonderheit ist, die immer nur zwei Chromosomen, und zwar nur je einem väterlichen und einem mütterlichen zukommen kann, den andern beiden also fehlen muß. Tritt daher die seltene Kombination ein, daß das väterliche und mütterliche X-Chromosom gleichzeitig frei werden, daß also vier X-Elemente in den Oocyten erscheinen, so dürfen wir diese mit Recht zu den vier Stäbchen einer Tetrade in Beziehung setzen. In Fig. 60, Taf. XL z. B. wären die beiden kleinen Dyaden als Hälften einer früheren Tetrade anzusehen, deren Komponenten mit denen einer der beiden großen Tetraden ursprünglich einmal im Zusammenhang gestanden hätten, und zwar wohl mit derjenigen, die sich, wie oben S. 612 besprochen worden ist, durch Kürze von der andern (beide sind schon in ihre Dyaden zerlegt) auszeichnete. Ebenso muß in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle, wo nur ein X-Chromosom von seinem Autosom frei gegeben wurde, das zweite X-Chromosom in dem Konjugationspartner eben dieses Autosoms enthalten sein. Der oft sehr deutliche Längenunterschied zwischen den Dyadenelementen ist mit dieser Vermutung im Einklang (vgl. Fig. 50, 51, Taf. XXXIX).

In den Oocyten kann man naturgemäß die vom Vater und die von der Mutter stammenden Chromosomen nicht unterscheiden, daher auch die Herkunft der vorhandenen X-Elemente nicht bestimmen. In den Furchungszellen dagegen ist diese Möglichkeit gegeben, und die Beobachtungen haben nun auch gezeigt, daß das X-Chromosom sowohl von der Eizelle als auch von dem Spermatozoon stammen kann. Seit Edwards das Auftreten freier Heterochromosomen in der Spermatogenese nachwies, mußte man als notwendige Konsequenz ihr gelegentliches Vorkommen in den Furchungsspindeln erwarten. Zudem konnte Boring für einige der von ihr gefundenen »small chromosomes« nachweisen, daß sie väterlicher Herkunft waren, indem hier alles mütterliche Chromatin an die Richtungskörper abgegeben war, in der ersten Furchungsspindel also nur väterliche Chromosomen, in diesen Fällen zwei gewöhnliche große und ein kleines, vorhanden waren.

Andererseits konnte ich zeigen, daß in meinem Material die in den Furchungsspindeln auftretenden Heterochromosomen nicht vom Spermatozoon mitgebracht waren, sondern dem Ei entstammten. Denn dort, wo wir sie in den Furchungsstadien fanden, fehlten sie in den zugehörigen Richtungskörpern. Auch Boring beschreibt einen Fall, wo das Heterochromosom der ersten Furchungsspindel aus dem Ei stammen muß, da hier das eingedrungene Spermatozoon sich nicht weiter entwickelt hatte. Selbst für diese Fälle ist indessen die Möglichkeit zuzugeben, daß das Heterochromosom ursprünglich einmal von einem Spermatozoon eingeführt wurde, vielleicht bei der vorigen oder vorvorigen Befruchtung. Denn sie teilen sich genau wie die andern Chromosomen, lassen sich durch die ganze Keimbahn hindurch verfolgen (Boring), und müssen dann eben, falls aus dem Ei ein Weibchen wird, in den Oocyten-Teilungen wieder erscheinen.

In den Oogonien sind sie bisher noch nicht nachgewiesen. Es hat aber auch bis jetzt nur Frolowa Oogonien eines geeigneten Materials daraufhin untersucht, d. h. eines solchen, in dem in den Reifungs- und Furchungsstadien Heterochromosomen vorhanden waren. Ich habe leider von den betreffenden Würmern die ganz jungen Eiröhrenabschnitte nicht mit konserviert, bin aber überzeugt, daß in den Oogonien dieser Tiere das X-Element sich finden würde. Denn sonst müßte die Ablösung erst in der Wachstumsperiode erfolgt sein. Dies ist natürlich möglich, und zu irgend einer Zeit muß ja dieser Vorgang einmal eingetreten sein. Aber in diesem Falle glaube ich eben doch, daß das Heterochromosom schon von einem der Eltern vererbt war, da es so ausnahmslos in allen Oocyten auftritt.

Man könnte daher annehmen, daß alle bisher bei *Asc. meg.* beschriebenen freien X-Chromosomen väterlicher Herkunft sind. Für die Mehrzahl der Fälle halte ich dies auch für das Wahrscheinlichste. Die Ablösung des Heterochromosoms von einem männlichen Chromosom erfolgt vielleicht leichter und darum öfter als von einem weiblichen. Gelegentlich muß aber auch das Letztere möglich sein, worauf die sehr seltenen Fälle, wo vier freie X-Elemente in der Oogenese beobachtet wurden, hinweisen. Denn diese würden ursprünglich einmal im Zusammenhang mit den vier Stäbchen einer großen Tetrade gestanden haben, von denen ja nach unserer Auffassung zwei die Spalthälften eines väterlichen, die zwei anderen die eines mütterlichen Chromosoms darstellen.

II. Verteilung der X-Elemente.

Demnach ist von den gewohnten zwei (und natürlich auch von den seltenen vier) bei *Ascaris meg.* beobachteten X-Elementen jedes einwertig, so gut wie ein gewöhnliches Tetradenstäbchen, und kann daher in den Reifungsteilungen nicht mehr geteilt werden; sondern sie sollen nur von einander getrennt werden, und zwar scheint dies normaler Weise durch die erste Reifungsteilung erfolgen zu sollen. Denn wir sahen, daß dies der häufigste Fall ist. Zuweilen erfolgt aber auch die Trennung erst in der zweiten Teilung. Edwards hat für die Spermatogenese ebenfalls beide Modi beschrieben, indem bei einigen Tieren die 1., bei andern die 2. Reifungsteilung die ungleiche war. Aber die Spermatocyten eines bestimmten Individuums zeigten stets alle ein einheitliches Verhalten. Kühtz (1913) gibt allerdings, wenn auch merkwürdigerweise nur als eine wahrscheinliche Annahme, für die Sclerostomum-Arten des Pferdes an, daß sowohl die erste, als auch die zweite Teilung die ungleiche sein könne. Nach Gulick (1911) ist bei *Strongylus tenuis* die 2. Spermatocytenteilung, bei *Strongylus paradoxus* und den drei untersuchten *Heterakis*-Arten die erste ungleich.

Nach alledem ist wohl das Vorkommen beider Verteilungsarten innerhalb desselben Tieres schon als eine Unregelmäßigkeit zu bezeichnen. Ganz sicher muß man dies jedenfalls von den Fällen behaupten, wo beide X-Elemente in einen der Richtungskörper wandern, oder beide dem Ei verbleiben, anstatt sich in einer der Teilungen voneinander zu trennen. Ferner sahen wir sie in der zweiten Richtungsspindel zuweilen ganz am äußersten Rande und in der ersten Furchungsspindel manchmal ganz außerhalb der Spindelfigur liegen. Alle diese Fälle müssen also als anormal bezeichnet werden. Offenbar ist die Trennung der X-Chromosomen von den Autosomen das Zeichen einer gewissen geringen Abnormität. Die

Eier sind zwar nicht pathologisch, denn Reifung, Befruchtung und Furchung verlaufen durchaus normal. Aber die losgelösten Stücke selbst zeigen häufig eine gewisse Direktionslosigkeit. Sie finden, seit sie nicht mehr im normalen Verbande sind, nicht immer ihren richtigen Weg.

Wir hätten hier einen interessanten Gegensatz zur Spermatogenese. Dort scheint die Verteilung des Heterochromosoms keine Schwierigkeit zu machen. Wenn auch, wie erwähnt, sowohl in der ersten wie in der zweiten Reifungsteilung die Verteilung der X-Elemente stattfinden kann, so wird doch zum Schluß immer die typische Verteilung erreicht. Daß dies in der Oogenese bisweilen mißglückt, hat vielleicht zum Teil seinen Grund in dem rudimentären Charakter der Richtungsspindeln überhaupt, der ja schon in dem Fehlen der Centrosomen zum Ausdruck kommt. Man könnte sich vorstellen, daß der Teilungsapparat einer Mehrleistung gegenüber dem typischen Verhalten, wie es ja die Verteilung des abgelösten Heterochromosoms ohne Zweifel darstellt, nicht ganz gewachsen ist, und daß er deshalb seine Aufgabe nicht immer richtig löst und so zu den verschiedenen Unregelmäßigkeiten Anlaß gibt.

III. Bruchstück oder Heterochromosom.

Zusammenfassend glaube ich sagen zu dürfen, daß man in den beigebrachten Beobachtungen eine weitere Stütze für die Auffassung der besprochenen kleinen Chromosomen als Geschlechtschromosomen sehen kann. Es bleibt nun noch eine Arbeit von Kautzsch (1913) zu besprechen, worin diese Ansicht abgelehnt, zugleich aber ein interessanter neuer Gesichtspunkt in die Diskussion eingeführt wird.

Kautzsch nimmt an, daß alle von den verschiedenen Beobachtern bei *Ascaris meg.* als Heterochromosomen in Anspruch genommenen Gebilde als zufällige Bruchstücke anzusehen sind, mögen es nun abgerissene Teile von Furchungs- oder Reifungschromosomen sein, oder Chromatinstücke, die schon in den Ureiern infolge zufälliger Zerstückelung vorhanden waren, oder bei der Umbildung aus dem oder in dem ruhenden Kern entstanden sind. Jedenfalls handle es sich in allen Fällen, auch dem von Edwards aus der Spermatogenese beschriebenen, um solche Zufallsprodukte, die sich dann durch Teilung weiter vererben können, und so fälschlicherweise den Eindruck von Heterochromosomen erwecken.

Unterschiede in dem Chromatinbestand der beiden Geschlechter sind natürlich auch bei *Ascaris meg.* zu erwarten, aber sie sind, so vermutet Kautzsch nach Analogie mit andern Nematoden, unter den bei der Diminution hervortretenden kleinen Elementen zu suchen. Kautzsch hat selber einige Zählungen von Diminutionsäquatorialplatten vorgenommen,

und zwar an einem für diese Frage besonders günstigen Material, wo nämlich infolge »spontaner Merogonie« nur eine väterliche Schleife (univalens) in der Zelle vorhanden war, während alles mütterliche Chromatin degeneriert war. Die wenigen einigermaßen genauen Zählungen, die er an dem beschränkten Material ausführen konnte, zeigen sehr bemerkenswerte Unterschiede. Bei einigen Embryonen betrugen die Zahlen im Mittel 27, bei andern 36. Kautzsch hält es für möglich, daß diese Unterschiede ein typisches Verhalten darstellen, daß also die Eier mit der größeren Chromosomenzahl zu Weibchen, die andern zu Männchen werden.

Ich habe hieraufhin ebenfalls solche Zählungen an zahlreichen Univalens-Embryonen aus verschiedenen Muttertieren vorgenommen. Dies ist selbst an gut fixierten und gefärbten Exemplaren ein sehr schwieriges Unternehmen. Auf 5 μ dicken Schnitten findet man die gewünschten Stadien in der gewünschten Lage schon an und für sich sehr selten, und von diesen lassen dann nur die wenigsten eine einigermaßen genaue Zählung zu. Denn die sehr zahlreichen kleinen Chromosomen drängen sich auf einen ziemlich engen Raum zusammen, berühren sich daher nicht selten und liegen auch fast nie alle in einer Ebene. Außerdem zeigen zuweilen einige nicht ganz senkrecht stehende Chromosomen schon die beginnende Durchschnürung, so daß die Entscheidung kaum möglich ist, ob man zwei ganze oder ein geteiltes Chromosom vor sich hat. Eine Zählung der Tochterplatte, wo ja diese Schwierigkeit wegfielen, ist deshalb unmöglich, weil hier die Chromosomen sofort ganz dicht zusammenrücken.

Trotzdem glaube ich in einigen der zahlreichen Zählungen eine ungefähre Genauigkeit erreicht zu haben. Allmählich stellte sich heraus, daß sich die Resultate in zwei Gruppen sondern ließen:

Die einen (Fig. 71a, b, Taf. XL) schwankten um 52 herum (die besten Zählungen ergaben 49 bis 54, davon aber die Mehrzahl über 50), die andern um 60 herum (Fig. 69, 70, Taf. XL) (die besten Resultate betrugen 58 bis 62). Eine gewisse Kontrolle wird dadurch möglich, daß es zuweilen gelingt, die Äquatorialplatten zweier Schwesterzellen zu zählen, wie es auch Kautzsch schon getan hat. In diesen Fällen fand ich stets in beiden annähernd die gleiche Zahl. Fig. 71a und b stellen solche Schwesterzellen dar; in der linken zählte ich 52, in der rechten 50 Chromosomen. Ich möchte nochmals betonen, daß man sich bei diesen Zählungen auf einem recht unsicheren Boden bewegt. Ich hätte deshalb meine Resultate nicht veröffentlicht, wenn sich nicht eine so auffallende Übereinstimmung mit den Kautzschschen Befunden ergeben hätte. So glaube ich wohl, daß diese beiden Angaben, obwohl jede für sich nur schwach fundiert ist, doch geeignet sind, sich gegenseitig eine gewisse Stütze zu verleihen.

Die großen Chromosomen scheinen demnach in verschiedenen Individuen bei der Diminution in eine verschiedene Anzahl von kleinen Elementen zerlegt zu werden. Bei einem Teil der Embryonen liefern die zwei ursprünglichen Chromosomen (Univalens) etwa 60 Diminutionskörner, bei dem andern Teil etwa 52. Bei der Übereinstimmung zwischen den Angaben von Kautzsch und mir darf man wohl annehmen, daß es sich hier um eine konstante Differenz (etwa acht, nach Kautzsch etwa neun) handelt, für die nur infolge der schwierigen Zählungsbedingungen etwas schwankende Werte gefunden wurden. Die von mir ermittelte Gesamtzahl der kleinen Chromosomen entspricht allerdings den Kautzschschen Befunden nicht ganz. Ich fand 52—60, während nach Kautzsch 63—72 zu erwarten wären. Ich muß es unentschieden lassen, ob es sich hier um wirkliche Differenzen im Material oder nur um Zählungsfehler handelt. Und ich glaube, man braucht dem keinen sehr großen Wert beizumessen, da sich ja trotzdem eine fast übereinstimmende Differenz zwischen den beiden Gruppen von Resultaten ergab.

Und diese Differenz ist es gerade, die uns besonders interessiert und die uns hier beschäftigen soll. Die Annahme von Kautzsch, daß es sich um Geschlechtsunterschiede handelt, scheint mir ebenso naheliegend wie einleuchtend, zumal wir bei *Ascaris lumbricoides* einen ganz analogen Fall kennen. Edwards stellte hier in der Spermatogenese eine Gruppe von fünf Idiochromosomen fest, und schildert die Zahlenverhältnisse für ♂ und ♀ folgendermaßen:

19 + 5 (Ei) + 19 (Spermium) = 43: ♂, (mit einer Gruppe von 5 Idiochrms.),
19 + 5 (Ei) + 19 + 5 (Sprm.) = 48: ♀, (mit zwei Gruppen von 5 Idiochrms.).

Für *Asc. meg.* wäre nach den obigen Angaben eine Gruppe von etwa acht Idiochromosomen anzunehmen, und die Chromosomenzahlen würden für Univalens ungefähr folgende Werte haben:

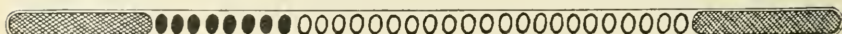
22 + 8 (Ei) + 22 (Spermz.) = 52 : ♂, (mit einer Gruppe von 8 Idchrs.),
22 + 8 (Ei) + 22 + 8 (Spz.) = 60 : ♀, (mit zwei Gruppen von 8 Idchrs.).

Nimmt man diese einstweilen allerdings noch etwas hypothetischen Vorstellungen an, so fragt es sich nun, ob und wie die übrigen Angaben über »Heterochromosomen« bei *Asc. meg.* mit dieser Anschauung zu vereinigen sind. Kautzsch zieht die Konsequenz seiner oben zitierten Ansicht über die »akzessorischen« Chromosomen und lehnt die Möglichkeit eines solchen Kompromisses von vornherein ab. Es scheint mir nun aber doch manches dafür zu sprechen, daß jenes gelegentlich auftretende Element der losgelösten Gruppe von Idiochromosomen entsprechen könnte.

Die zunächst von Boveri gehegte Vermutung, daß normalerweise das Geschlechtschromatin mit den großen Chromosomen verbunden ist, ließ

fürs Erste die Annahme als die natürlichste erscheinen, daß diese Anlagerung an dem einen Ende des großen Chromosoms stattgefunden habe. Mit Rücksicht auf die Diminutionsvorgänge scheint dies jedoch ausgeschlossen zu sein. Denn dann würde sich das Geschlechtschromatin nur in der Keimbahn erhalten, in sämtlichen somatischen Zellen aber degenerieren, eine Vorstellung, die auf Grund der seither angestellten Vererbungsexperimente, wie auch nach dem Verhalten der hermaphroditen *Rhabditis nigrovenosa* kaum annehmbar ist.

Man kann sich den Bau eines großen Chromosoms von *Asc. meg.*, wie er etwa einem nicht diminuierten Furchungschromosoma zukommt, nach einer unveröffentlichten Vermutung Boveris etwa so vorstellen, wie die nachstehende schematische Figur es veranschaulicht.



An den beiden Enden ist durch grauen Ton das Diminutionschromatin kenntlich gemacht; dazwischen liegen, in einfacher Reihe hintereinander geordnet und in eine gemeinsame Grundmasse eingebettet, die kleinen Chromosomen, 30 an der Zahl. Davon sind acht schwarz gezeichnet, sie sollen die besprochene Gruppe von Idiochromosomen darstellen und sind alle nebeneinander an dem einen Ende des nicht von der Diminution betroffenen Abschnittes eingeschaltet. Dies rechtfertigt sich dadurch, daß eine Gruppe von Idiochromosomen, wie wir sie etwa bei *Ascaris lumbricoides*, oder bei *Gelastocoris* oder *Acholla* (Payne) finden, oft ein gemeinsames und von den Autosomen mehr oder weniger abweichendes Verhalten zeigen. Offenbar besitzen sie untereinander eine größere Affinität und stehen in einem gewissen Gegensatz zu den Autosomen. Einen Beweis hierfür haben wir allerdings bei *Asc. meg.* vorläufig nicht.

Ein Herauslösen eines solchen Abschnittes, wie ihn der Idiochromosomenbereich innerhalb des großen Chromosoms darstellt, erscheint nun aber durchaus möglich. Kautzsch gibt selber zu, daß neben anscheinend normalen Schleifen gelegentlich ein kleines Element neu auftreten könne, »wenn bei der Herausbildung der Schleifen aus dem ruhenden Kern ein Teil des Kerngerüsts sich abtrennt, die zugehörigen Schleifenenden aber aneinander Anschluß finden.« Boveri (1909) teilt eine ähnliche Annahme mit zur Erklärung gelegentlich vorkommender Abnormitäten, wo in der Prophase einer Teilung zwei Chromosomenschleifen wie Hake und Öse ineinander verhängt erscheinen (siehe seine Fig. 45—47). Dieser Zustand, der in der Telophase der vorhergehenden Teilung wohl sicher noch nicht vor-

handen war, ließe sich, wie Boveri ausführt, durch eine geringfügige Umgruppierung der mittleren Chromosomenabschnitte während des Ruhestadiums — Lösung einer ursprünglichen Verbindung und Herstellung einer neuen zwischen den Teilen eines Chromosomas — entstanden denken (siehe seine Textfig. 3). Man kann sich nun leicht vorstellen, daß bei einer solchen Gelegenheit ein zu dem übrigen Chromatin in gewissem Gegensatz stehender Teil des Chromosomengerüstes ganz von dem übrigen abgetrennt wird und demzufolge später als selbständiges Chromatinelement auftreten würde. Die Möglichkeit solcher Vorgänge wird man also jedenfalls zugeben müssen. Und dann scheint mir eben gerade der Idiochromosomenbereich das Stück zu sein, dessen Loslösung am leichtesten möglich ist, sowohl wegen der oben besprochenen »Idiochromosomeneigenschaften«, wie auch auf Grund gewisser Überlegungen betreffs des Diminutionschromatins.

Die bei der Diminution abgestoßenen Teile sind offenbar gar nicht Chromatin von der gleichen Qualität wie der mittlere Abschnitt. Auf den ersten Blick freilich möchte man annehmen, daß auch die Endstücke eigentlich einer gewissen Anzahl von Einzelchromosomen entsprächen. Durch einen Vergleich mit den Verhältnissen bei *Asc. lumbr.* wird aber diese Vermutung höchst unwahrscheinlich. Hier ist von vornherein eine große Zahl von Chromosomen (48) vorhanden. Während der ersten Furchungsteilungen tritt ebenfalls eine Chromatindiminution ein (Bonnevie, 1901), nun aber nicht in der Weise, daß etwa einige von den kleinen Chromosomen degenerierten und so ausgeschaltet würden, sondern jedes einzelne Chromosom stößt jederseits ein Diminutionskörnchen ab. Jetzt, nach der Diminution erst, kann man die *Lumbricoides*-Chromosomen den kleinen *Megalocephala*-Chromosomen homolog setzen. Und man darf auf Grund dieses Vergleichs wohl behaupten, daß bei *Asc. meg.* die abgestoßenen Teile nicht die Wertigkeit echter Chromosomen besitzen. Sondern sie erscheinen als eine mehr indifferente Masse, die sich an die Enden der eigentlichen Chromosomen ansetzt.

Damit steht ihr Verhalten in den Ursomazellen im besten Einklang. Sie bleiben hier nach ihrer Ablösung untätig im Plasma liegen, machen keine Teilung mehr mit, sondern werden durch den Zufall hierhin und dorthin verschleppt, um schließlich zu degenerieren. Gelegentlich werden aber, wie Boveri (1900) gezeigt hat, die abgestoßenen Endstücke doch noch einmal geteilt. Dies hängt von dem Zeitpunkt der Diminution ab. Ist zur Zeit der Ablösung die Äquatorialplatte schon ausgebildet, die Chromosomenspaltung also schon eingeleitet, so kann noch eine einmalige Teilung der abgetrennten Stücke erfolgen. Wenn aber der Zusammenhang

schon früher gelöst ist, dann haben die isolierten Enden ein für allemal ihre Teilungsfähigkeit verloren.

Ähnliche Vorgänge, wie sie bei der normalen Diminution auftreten, konnte Payne (1912) nach Radiumbestrahlung auch in den generativen Zellen feststellen. Hier zerfielen die mittleren Abschnitte der großen Chromosomen häufig in eine größere Anzahl von Körnern, die normal geteilt wurden, wogegen die Enden, als Ganzes oder in einige Brocken zerfallen, ungeteilt und untätig liegen blieben und dann degenerierten. Hier ist also experimentell ein scharfer Gegensatz zwischen dem mittleren und den beiden Endabschnitten des großen *megalocephala*-Chromosoms nachgewiesen, und zwar, was das Wichtige daran ist, in den generativen Zellen, in denen sonst keine Unterschiede wahrzunehmen sind.

Es ist auch fraglich, ob sich selbst in den generativen Zellen das Diminutionschromatin durch alle Zellfolgen hindurch erhält, ob es nicht zu gewissen Zeiten gleichsam neu an die eigentlichen Chromosomen ankristallisiert. Hierdurch erscheint eine gelegentliche Isolierung des Idiochromosomenbereichs noch leichter verständlich. Dieser würde dann doch gewissermaßen am »Ende des Chromosoms« liegen, und würde deshalb am ehesten und leichtesten eine Ablösung erfahren können.

Die Idiochromosomengruppe würde demnach für gewöhnlich zwar von dem Diminutionschromatin überlagert sein, zuweilen aber vielleicht auch ganz frei liegen. Speziell für die Reifungschromosomen scheint es mir wahrscheinlich, daß sich hier das Diminutionschromatin überhaupt noch nicht angesetzt hat. Schon der sehr auffallende Längenunterschied gegenüber den Furchungschromosomen würde mit dieser Annahme gut übereinstimmen. Vor allem aber zeigen die Tetraden-Stäbchen oft ihrer ganzen Länge nach eine große Gleichmäßigkeit der Struktur. Häufig sind sie genau metamer aus einer Reihe ganz gleichgroßer Scheibchen zusammengesetzt (Boveri, 1887). Auch hierin stehen sie im Gegensatz zu den Furchungschromosomen, bei denen zwar eine feinere Struktur meist nicht sichtbar ist, wo sich indessen die kolbenförmig angeschwollenen Endstücke oft recht deutlich von dem mittleren Teil abheben.

Daß diese Chromosomenenden gelegentlich ganz oder teilweise abbrechen können, steht außer Zweifel. Ein großer Teil der bisher beschriebenen Bruchstücke wird so entstanden sein. Für uns handelt es sich darum, ob auch die als Heterochromosomen in Anspruch genommenen Stücke hierher gehören, wie Kautzsch annimmt, also aus Diminutionschromatin bestehen, oder ob sie einem bestimmten losgelösten Teil des eigentlichen Chromosoms entsprechen. Ein absolut sicheres Kriterium zur Entscheidung dieser Frage gibt es vorläufig nicht. Doch scheinen mir alle

die angeführten Beobachtungen zugunsten der letzteren Annahme zu sprechen. Es sind dies, um es kurz zusammenzufassen, einerseits das absolut konstante Auftreten der »Heterochromosomen« in sämtlichen Oocyten gewisser Individuen, die annähernd konstante Größe, die glatten Konturen (während der Furchung), die beschränkte Zahl (nie mehr als vier, meist zwei Elemente während der Reifung, nie mehr als zwei, meist eines während der Furchung), das Fehlen von Anzeichen, daß ein bestimmtes Schleifenende abgerissen ist (s. S. 613), und die Teilungsfähigkeit; auf der andern Seite der offensichtliche Gegensatz des Diminutionschromatins zu dem übrigen Chromatin, die mangelnde Teilungsfähigkeit der abgestoßenen Endstücke[1]), ihr Degenerieren in den PAYNEschen Radiumversuchen.

Durch alle diese Argumente scheint es mir sehr wahrscheinlich geworden, daß die beschriebenen Heterochromosomen nicht zufällig abgebrochene Endstücke, also Diminutionschromatin sind, sondern daß sie abgelöste Teile des eigentlichen Chromosoms darstellen. Eine solche Ablösung liegt nach den obigen Ausführungen durchaus im Bereich der Möglichkeit. Wenn sie aber eintritt, wird vorzugsweise der oben als Idiochromosomenbereich in Anspruch genommene Bezirk davon betroffen werden. Darum glaube ich, daß die beiden einander zunächst scheinbar widersprechenden Angaben durchaus zu vereinigen sind, daß also die schon wiederholt und auch in der vorliegenden Arbeit wieder beschriebenen »Heterochromosomen« wirklich Geschlechtschromosomen sind, und daß sie sehr wohl als die losgelöste Gruppe der von KAUTZSCH und mir wahrscheinlich gemachten Idiochromosomen-Gruppen aufgefaßt werden können.

Zusammenfassung.

I. Teil.

1. Sämtliche Oocyten einer *Asc. meg. biv.* zeigen in der Prophase der ersten Reifungsteilung die abnorme Erscheinung, daß vier Dyaden statt der gewohnten zwei Tetraden vorhanden sind.

2. Die Dyaden zeigen sehr auffallende und konstante Größenunterschiede, indem immer zwei größere und zwei kleinere vorkommen.

3. Sehr selten wurden mehr Elemente beobachtet, die dann durch Fragmentierung der typischen vier Stücke zu erklären sind.

---

[1]) Hier ist natürlich nur von Bruchstücken die Rede, die in der Größe ungefähr den Heterochromosomen entsprechen. Größere Fragmente, die neben dem Diminutionschromatin auch noch einen Teil des eigentlichen Chromosoms enthalten, werden sich auch weiterhin normal teilen können.

4. Die Dyaden werden meist in der ersten Teilung in ihre beiden Bestandteile getrennt, fast immer verläuft diese Teilung normal.

5. Die zweite Teilung, durch die die zwei großen und die zwei kleinen einzelnen Stäbchen verteilt werden sollten, verläuft fast stets anormal, indem die Verteilung rein zufällig, daher fast stets unregelmäßig erfolgt. Dabei können weitere Fragmentierungen der Chromosomen auftreten.

6. Im Vorkernstadium bildet oft jedes der im Ei verbliebenen Chromosomen oder Chromosomenbruchstücke ein Kernbläschen für sich, so daß meist mehr als ein weiblicher Vorkern vorhanden ist, zuweilen bis zu sechs, oft von sehr verschiedener Größe.

7. Die erste Furchungsspindel zeigt sehr wechselnde Zahlen- und Größenverhältnisse der Chromosomen, nur selten finden sich vier normal große Chromosomen. Da die spätest abgetöteten Eier nicht über das Zweizellenstadium hinausgelangt sind, läßt sich über ihre Entwicklungsfähigkeit nichts aussagen.

8. Auch bei *Asc. meg.* sind die Tetraden wahrscheinlich durch Konjugation zweier längsgespaltener Chromosomen entstanden.

9. Die Dyaden in unserem Fall sind wohl als die vier ursprünglichen, längsgespaltenen Chromosomen aufzufassen, bei denen es nicht zu einer Konjugation gekommen ist.

10. Höchstwahrscheinlich stammen die zwei großen Dyaden von dem einen, die zwei kleinen von dem andern der beiden Eltern.

11. Der Grund für das Ausbleiben der Konjugation ist vielleicht eine der äußeren Größendifferenz entsprechende zu starke innere Verschiedenheit der väterlichen und mütterlichen Chromosomen.

12. Zur Entscheidung der Frage, ob normaler Weise die erste oder zweite Teilung die Reduktionsteilung ist, läßt sich das Material, entgegen der Meinung Tretjakoffs, nicht verwerten.

13. Die Unregelmäßigkeiten der Chromatinverteilung rühren daher, daß der Teilungsapparat der Aufgabe, eine Anzahl ganzer Chromosomen in regulärer Weise zu verteilen (Primärtypus) nicht gewachsen ist.

14. Die Chromosomenkonjugation erscheint daher schon aus teilungsmechanischen Gründen nötig.

II. Teil.

15. In drei von 26 Tieren (*Asc. meg. biv.*) wurden freie Heterochromosomen in der Oogenese gefunden, und zwar in allen Oocyten ohne Ausnahme.

16. Sie treten fast stets als zwei verbundene Kügelchen auf und repräsentieren höchstwahrscheinlich ein gespaltenes X-Chromosom, das

die normale Verbindung mit dem zugehörigen Autosom gelöst hat, während das zweite mit seinem Autosom verbunden bleibt.

17. Die Spalthälften werden meist in der ersten Reifungsteilung getrennt. Das in der Oocyte II zurückbleibende Element gelangt in den zweiten Richtungskörper oder in das reife Ei. Nicht selten findet die Trennung erst bei der zweiten Teilung statt.

18. Daneben kommen verschiedene Unregelmäßigkeiten in der Verteilung vor. Beide Spalthälften können gemeinsam in den ersten Richtungskörper wandern, gelegentlich auch in den zweiten Richtungskörper oder in das reife Ei.

19. Eine Teilung der Spalthälften selbst kommt nicht vor. Sie kann auch nach dem sub 16 Gesagten nicht erwartet werden, trotz der gegenteiligen Angaben von Frolowa.

20. In dem Vorkernstadium bildet das X-Chromosom häufig ein kleines Extrakernbläschen.

21. In den ersten Furchungsspindeln tritt oft ein X-Chromosom auf, selten auch zwei (nie mehr), die in diesen Fällen beide dem Ei entstammen. Die befruchtenden Spermatozoen enthielten hier keine freien Heterochromosomen.

22. In ganz vereinzelten Ausnahmefällen wurde eine X-Tetrade (Keimbläschen) oder vier freie X-Elemente (zweite Richtungsspindel) beobachtet, was so aufzufassen sein dürfte, daß sowohl das väterliche, wie das mütterliche X-Chromosom sich selbständig gemacht haben.

23. Die Unregelmäßigkeiten in der Verteilung sowie einige andere Beobachtungen zeigen eine gewisse Direktionslosigkeit der selbständig gewordenen X-Chromosomen und deuten auf eine geringe Abnormität der Eizelle. Diese gestattet uns aber gerade den Einblick in die sonst nicht sichtbaren Verhältnisse der Geschlechtsbestimmung und erlaubt uns den Rückschluß, daß im normalen Verlauf der Oogenese von den mit den vier Stäbchen einer Tetrade verbundenen X-Elementen stets eines in das reife Ei gelangen muß.

24. Das Geschlechtschromatin ist, solange es in seiner normalen Verbindung mit dem Autosom steht, nicht an dessen Ende angelagert zu denken. Am wahrscheinlichsten dürfte es am Ende des eigentlichen »Autosoms«, aber nach außen noch von dem Diminutionschromatin überlagert, seinen Platz haben.

25. Ein gelegentliches Herauslösen gerade dieses Abschnittes erscheint durchaus möglich.

26. Gegen die Annahme, daß alle bei *Asc. meg.* beschriebenen Heterochromosomen zufällig abgebrochene Endstücke sind, lassen sich eine

Reihe von Argumenten einerseits aus den Eigenschaften der Heterochromosomen, andererseits aus denen des Diminutionschromatins anführen.

27. Von Kautzsch und mir ist eine Gruppe von acht (neun) Idiochromosomen bei *Asc. meg.* wahrscheinlich gemacht worden.

28. Alle Argumente, die gegen die Bruchstücknatur der »Heterochromosomen« sprechen, sind zugleich eine Stütze für die Annahme, daß diese gelegentlich auftretenden Stücke nichts anderes als die losgelöste Gruppe dieser Heterochromosomen sind.

Literaturverzeichnis.

v. Beneden, E. et Julin, Ch. (1884), La spermatogénèse chez l'Ascaride mégalocéphala Bull. Acad. roy. des Sciences etc. de Belgique. T. VII. 1884.

Blanckertz, R. (1910), Die Ausbildung der Tetrade im Ei von Ascaris megalocephala univalens. Arch. f. Zellf. VI. 1910.

Bonnevie, Chr. (1901), Über Chromatindiminution bei Nematoden. Jena. Zeitschr. f. Naturwiss. 36.

—— (1909), Chromosomenstudien II. Arch. f. Zellf. II. 1909.

Boring, A. M. (1909), A small chromosome in Ascaris megalocephala. Arch. f. Zellf. IV.

Boveri, Th. (1887, 1888), Zellenstudien. I, II.

—— (1892), Befruchtung. Erg. d. Anat. u. Entw.-Gesch. Bd. I.

—— (1899), Die Entwicklung von Ascaris megalocephala mit besonderer Rücksicht auf die Kernverhältnisse. Festschr. f. C. v. Kupffer.

—— (1904), Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns. Jena.

—— (1909), Die Blastomeren-Kerne von Ascaris megalocephala und die Theorie der Chromosomenindividualität. Arch. f. Zellf. III.

—— (1910), Über Geschlechtschromosomen bei Nematoden. Arch. f. Zellf. IV.

—— (1911), Über das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Hermaphroditismus. Beobachtungen an Rhabditis nigrovenosa. Verh. d. Phys.-Med. Ges. Würzburg. N. F. 41.

Brauer, A. (1893), Zur Kenntnis der Spermatogenese von Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat. u. Entw. 42.

Edwards, C. L. (1910), The idochromosomes in Ascaris megalocephala and Ascaris lumbricoides. Arch. f. Zellf. V.

—— (1911), The sex-chromosomes in Ascaris felis. Arch. f. Zellf. VII.

Federley, H. (1913), Das Verhalten der Chromosomen bei der Spermatogenese der Schmetterlinge Pygaera anachoreta, curtula und pigra sowie einiger ihrer Bastarde. Zeitschr. f. ind. Abst. u. Vererbl. IX.

—— (1914), Ein Beitrag zur Kenntnis der Spermatogenese bei Mischlingen zwischen Eltern verschiedener systematischer Verwandtschaft. Ofversigt af Finska Vetensk. Soc. Förh.

Frolowa, S. (1913), Idiochromosomen bei Ascaris megalocephala. Arch. f. Zellf. IX.

Glaue, H. (1910), Beitr. zur Systematik der Nematoden. Zool. Anz. 35.

Goldschmidt, R. (1905), Eireifung, Befruchtung und Embryonalentwicklung des Zoogonus mirus Lss. Zool. Jahrb. XXI.

Griggs (1906), A reduction division in Ascaris. Ohio Naturalist. VI.

Gulick, A. (1911), Über die Geschlechtschromosomen bei einigen Nematoden nebst Bemerkungen über die Bedeutung dieser Chromosomen. Arch. f. Zellf. VI.

Hertwig, O. (1890), Vergleich der Ei- und Samenbildung bei Nematoden. Arch. f. mikr. Anat. u. Entw. 36.

—— (1906), Allg. Biologie.

Kautzsch, G. (1913), Studien über Entwicklungsnomalien bei Ascaris II. Arch. f. Entw.-Mech. 35.

Korschelt und Heider (1902), Lehrb. d. vgl. Entwicklungsgeschichte. Allg. Teil.

Krüger, E. (1913), Fortpflanzung und Keimzellenbildung von Rhabditis aberrans. Zeitschr. f. wiss. Zool. 105.

Kühtz, K. (1913), Über die Spermio- und Ovogenese der Sclerostomumarten des Pferdes unter bes. Berücks. d. Heterochromosomenforschung. Arch. f. mikr. Anat. 83.

Marcus, H. (1906), Ei- und Samenreife bei Ascaris canis. Arch. f. mikr. Anat. 68.

Montgomery, T. H. (1909), On the morphological difference of the chromosomes of Ascaris megalocephala. Arch. f. Zellf. II.

Mulsow, K. (1913): Chromosomenverhältnisse bei Ancyracanthus cystidicola. Arch. f. Zellf. IX.

Payne, F. (1913), A study of the effect of Radium upon the eggs of Ascaris megalocephala univalens. Arch. f. Entw.-Mech. 36.

Rosenberg, O. (1903), Das Verhalten der Chromosomen in einer hybriden Pflanze. Ber. d. deutsch. bot. Ges. 21.

—— (1904), Über die Tetradenteilung eines Droserabastards. Ebenda.

Sabaschnikoff, M. (1897), Beiträge zur Kenntnis der Chromatinreduktion in der Ovogenese von Ascaris megalocephala bivalens. Bull. de la Soc. imp. des Nat. de Moscou.

Saedeleer, A. de (1912), Contribution à l'étude de l'Ovogénèse dans l'Ascaris megalocephala biv. La Cellule 28.

Schleip, W. (1911), Das Verhalten des Chromatins bei Angiostomum nigrovenosum. Arch. f. Zellf. VII.

Schneider, K. C. (1902): Lehrbuch der vergl. Histologie. Jena.

Schöppler und Krüger (1912), Zur Unterscheidungsfrage von Ascaris canis und A. felis. Zentralbl. f. Bakt. 62.

Schreiner, A. u. K. E. (1904), Die Reifungsteilungen bei den Wirbeltieren. Anat. Anz. 24.

Struckmann (1905): Ei- und Samenbildung und Befruchtung von Strongylus filaria. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. Bd. 22.

Tretjakoff, D. (1905a), Die Bildung der Richtungskörperchen in den Eiern von Ascaris megaloceph. Arch. f. mikr. Anat. 65.

—— (1905b), Die Spermatogenese bei Ascaris megalocephala. Ebenda.

Wassermann (1913), Die Oogenese des Zoogonus mirus. Arch. f. mikr. Anat. 83.

Wilson, E. B. (1911), The sex chromosomes. Arch. f. mikr. Anat. 77.

Zacharias, O. (1912), Über chromatophile Körperchen (Parachromosomen) in den Kernen der Eimutterzellen von Ascaris megaloc. Zool. Anz. 40.

Erklärung der Abbildungen.

Sämtliche Abbildungen wurden mit dem großen Abbeschen Zeichenapparat entworfen, mit Zeiss Apochromat 2 mm, n.Ap. 1,30 und Comp.-Ocular 6. Vergrößerung rund 1250. Die meisten Bilder wurden nach Totalpräparaten gezeichnet, Fixierung Alk. Eisessig (95 T. 70% Alk. + 5 T. Eisessig), Färbung Grenachers Boraxkarmin; nur einige, die mit einer entsprechenden Bemerkung versehen sind, nach 20 μ bzw. 5 μ dicken Schnitten; Fixierung ebenso oder Pikrinessigsäure, Färbung Heidenhains Eisenhämatoxylin.

Abkürzungen: Rsp. = Richtungsspindel, Rk. = Richtungskörper, Vk. = Vorkern, Fsp. = Furchungsspindel, Chrs. = Chromosom.

Tafel XXXVIII.

Alle Figuren mit Ausnahme von Fig. 32 sind nach Eizellen einer einzigen *Asc. meg. biv.* gezeichnet (»Dyadenmaterial«). Fig. 2, 8, 11, 17, 30 nach 20 μ dicken Schnitten.

Fig. 1. Keimbläschen. 4 Dyaden, 2 größere und 2 kleinere, in der Mitte der Nucleolus.

Fig. 2—8. Vorbereitung zur ersten Rsp.

Fig. 2. 4 Dyaden, 2 größere und 2 kleinere. Größenverhältnis etwas 3 : 2. Die rechte zeigt die U-Form. Die beiden mittleren die Y-Form. Achromatische Verbindungen. An der größten Dyade von jedem Schenkel ein kleines Stück abgebrochen.

Fig. 3. Ebenso. Strukturdifferenzen zwischen den beiden Hälften der größten Dyade.

Fig. 4. Ebenso. An der größten Dyade in der Mitte der eine Schenkel zerbrochen. Entstehungsmöglichkeit zweier halbgroßer aus einer großen Dyade.

Fig. 5. Vier Dyaden und eine »Mikrotetrade«. Diese nicht vierwertig, sondern wohl von einer der drei kleineren Dyaden abgebrochen. Selten.

Fig. 6. Fünf Dyaden; zwei von den kleineren wohl durch Zerbrechen einer großen, ursprünglichen Dyade entstanden. Selten.

Fig. 7. u. 8. Ringform der einen großen Dyade. Strukturdifferenzen zwischen den beiden kleinen.

Fig. 9. Erste Rsp. von der Seite.

Fig. 10. Erster Rk. eben abgeschnürt. In ihm wie auch im Ei je zwei lange und zwei kurze einzelne Stäbchen.

Fig. 11. Abnorme zweite Rsp.; kein erster Rk. gebildet. Die Dyaden bis auf eine in ihre Hälften zerlegt.

Fig. 12. Zweite Rsp.; Größen- und Strukturdifferenzen der vier Elemente; vgl. Fig. 8.

Fig. 13. Zweite Rsp. vom Pol gesehen; 2 lange und 2 kurze Chromosomen.

Fig. 14—16. Zweite Rsp. Die Chromosomen liegen regellos durcheinander. Einzelne Stücke abgebrochen.

Fig. 17, 18. Zweite Rsp. vierpolig. Fig. 17 abnorm. Vgl. Fig. 11. Nur eine Dyade in ihre Hälften zerlegt. Ausnahme.

Fig. 19. Abschnürung des II. Rk. Nur zwei kleine Chromatinelemente, wohl Bruchstücke, werden ausgestoßen.

Fig. 20. Ebenso. Ein großes und ein kleines Stäbchen werden abgegeben, zwei ebensolche bleiben im Ei. Normal. Selten. I. Rk. normal.

Fig. 21—23. Vk. Stadien.

Fig. 21. Zwei sehr verschieden große ♀ Vk. Der kleine wohl aus einem Chrs.-Bruchstück entstanden. Darunter der ♂ Vk. Die Rk. lagen oben.

Fig. 22. Sechs weibliche Vk. Sehr chromatinarm und verschieden groß, in jedem ein Nucleolus. Darunter der ♂ Vk.

Fig. 23. Vier ♀ Vk. Der ♂ nicht gezeichnet. Nur ein Rk. gebildet. Vgl. Fig. 11.

Fig. 24—30. I. Fsp.

Fig. 24. Fünf Chrs. Die beiden größten wohl männlich. Das kleinste wohl ein Bruchstück.

Fig. 25. Sieben Chromosomen. Die beiden größten, normal aussehenden wohl wieder ♂. Von den übrigen die beiden größten vielleicht von den kleinen Dyaden stammend. Die anden wohl Bruchstücke.

Fig. 26, 27. Vier normal aussehende Chromosomen. In Fig. 27 noch zwei kleine Chromatinelemente, weitab und tiefer gelegen, machen wohl die Teilung nicht mit.

Fig. 28. Die Vk. eben aufgelöst und die Fsp. eben ausgebildet. Wohl Befruchtung durch Univalens-♂. Demnach das links allein liegende Chrs. ♂, die drei rechtsgelegenen sehr verschieden großen ♀.

Fig. 29. Drei Chrs. Die beiden oberen normal aussehenden wohl wieder ♂, das untere auffallend dünne ♀.

Fig. 30. Zwei Chrs. Wohl beide ♂. Alles ♀ Chromatin an die Rk. abgegeben.

Fig. 31. Vorbereitung zur I. Rsp. Oben die beiden kleinen Dyaden. In dem unteren Gebilde müssen die beiden großen enthalten sein. Vielleicht bei × × die vier Endpunkte. Konjugationsversuch??

Fig. 32. Ovocyte I. aus einem andern, normalen Weibchen. Die untere Tetrade aus zwei Dyaden von auffallend verschiedener Länge zusammengesetzt.

Tafel XXXIX und XL.

Alle in den Fig. 33—68 dargestellten Eizellen, mit alleiniger Ausnahme von Fig. 36, stammen aus den Eiröhren zweier *Asc. meg. biv.*, die beide ganz die gleichen Verhältnisse zeigen (»Heterochromosomenmaterial«). Fig. 35, 38, 39, 41, 42, 63—65, 67 nach 20 μ dicken Schnitten.

Tafel XXXIX.

Fig. 33—35. Keimbläschen. Die zwei großen Tetraden und die X-Dyade.

Fig. 33. Die X-Dyade frei gelegen. Die beiden Elemente dicht benachbart.

Fig. 34. Die beiden Elemente in geringer Entfernung. Untereinander und mit zwei Stäbchen einer Tetrade achromatisch verbunden. Selten.

Fig. 35. Die beiden X-Elemente als Köpfchen zwei Stäbchen einer Tetrade aufsitzend. Selten.

Fig. 36. Keimbläschen aus dem dritten Wurm, von dem ich keine späteren Stadien besitze. Zwei große Tetraden, und eine kleine, die wohl sicher als X-Tetrade aufzufassen ist. Der einzige einwandfreie Fall.

Fig. 37—39. Erste Rsp. Die X-Dyade frei zwischen oder neben den beiden großen Tetraden.

Fig. 40—42. Telophase der I. Teilung. Verteilung der X-Elemente.

Fig. 40. 1. Rk. und Ooc. II. erhalten je ein X. Der häufigste Fall.

Fig. 41. Beide X-Elemente gehen in den 1. Rk. Seltener.

Fig. 42. Beide X-Elemente bleiben in der Ooc. II. Seltener.

Fig. 43—49. 2. Rsp. Verteilung des oder der X-Elemente.

Fig. 43, 44. 1. Rk. ein X, 2. Rsp. ein X. In Fig. 44 ganz am Rande der Spindel.

Fig. 45, 46. 1. Rk. zwei X, 2. Rsp. kein X. Fig. 46 Polansicht der Spindel.

Fig. 47—49. 1. Rk. kein X, 2. Rsp. zwei X. In Fig. 47 noch beide benachbart. Selten. In Fig. 48 und 49 schon beide getrennt, wohl der ersten Teilung entsprechend. In Fig. 49 beide ganz am Rande der Spindel.

Fig. 50. 2. Rsp. Polansicht. 1. Rk. ein X, 2. Rsp. ein X. Auffallender Größenunterschied zwischen den beiden Stäbchen der rechten Dyade im Ei. Auch zwischen denen der rechten im 1. Rk., wenn auch nicht so deutlich. Beide Dyaden haben wohl zusammen eine Tetrade gebildet, und die beiden X-Elemente dürften ursprünglich einmal mit den beiden kürzeren Stäbchen in Zusammenhang gestanden haben.

Fig. 51. 1. Rk. mit einem X. Ebenfalls Größenunterschied zwischen den Stäbchen der oberen Dyade.

Fig. 52—56. Verteilung der X-Elemente durch die 2. Rsp.

Fig. 52, 53. Telophase der zweiten Teilung. Fig. 52. 1. Rk. ein X, 2. Rk. kein X, Ei ein X.

Fig. 53. 1. Rk. ein X, 2. Rk. ein X, Ei kein X.

Fig. 54. 1. u. 2. Rk. kein X, Ei zwei X. Drei ♀ Vk.-Bläschen. Selten.

Fig. 55. 1. Rk. kein X, 2. Rk. zwei X, ♀ Vk. kein X. Selten.

Fig. 56. 1. Rk. ein X, 2. Rk. ein X, ♀ Vk. kein X.

Tafel XL.

Fig. 57, 58. Abnorme 2. Rsp. Kein 1. Rk. gebildet. In Fig. 57 die beiden X-Elemente noch ungetrennt als Dyade. Selten. In Fig. 58 schon getrennt, wohl der ersten Teilung entsprechend. Relativ häufig.

Fig. 59, 60. 2. Rsp. Seltene Ausnahmefälle mit vier X-Elementen.

Fig. 59. Alle vier X-Elemente in der 2. Rsp. zwei noch eine Dyade bildend, die beiden anderen schon getrennt.

Fig. 60. Die eine X-Dyade im ersten Rk., die andere in der zweiten Rsp. Der normale Fall. Zu beachten die Größenunterschiede zwischen den beiden großen Dyaden der 2. Rsp., auch zwischen denen des 1. Rk., wenn auch weniger deutlich. Die Stäbchen einer Dyade untereinander gleich oder fast gleich lang. Die beiden kürzeren Dyaden haben wohl zusammen eine Tetrade gebildet, und die vier X-Elemente standen ursprünglich einmal mit dieser im Zusammenhang.

Fig. 61, 62. Vk. Stadium. Ein X-Element im reifen Ei, hat ein kleines Extrakernbläschen gebildet.

Fig. 61. 1. Rk. kein X, 2. Rk. ein X, Ei ein X. In der Mitte der männliche Vk.

Fig. 62. 1. Rk. ein X, 2. Rk. kein X, Ei ein X. Der ♂ Vk. in der Mitte.

Fig. 63—66. 1. Fsp. mit einem X-Chromosom.

Fig. 63, 64. Alle acht freien Enden der großen Chromosomen mit deutlicher Anschwellung. Nirgends eine Bruchstelle.

Fig. 64. Das X-Chromosom weit von den übrigen entfernt und ganz außerhalb der Spindelfigur.

Fig. 65. Das eine Chromosom zerbrochen. Unterschied zwischen den Bruchstellen und den Konturen des X-Chrs.

Fig. 66. Sechs große Chrs. und das kleine. Kein 1. Rk. gebildet, daher vier weibl. Chrs.

Fig. 67, 68. I. Fsp., vier große Chrs. und zwei kleine Chrs. Diese stammen beide aus dem Ei, da sie in den Rk. fehlen (Fig. 68). In Fig. 67 liegen sie beide mit in der Äquatorialplatte, in Fig. 68 ziemlich weit davon entfernt.

Fig. 69—71. Diminutionsäquatorialplatten des 4-Zellenstadiums. *Asc. meg. univ.* Fixierung Pikrinessigsäure. Schnitte, 5 μ. Heidh. Haemat.

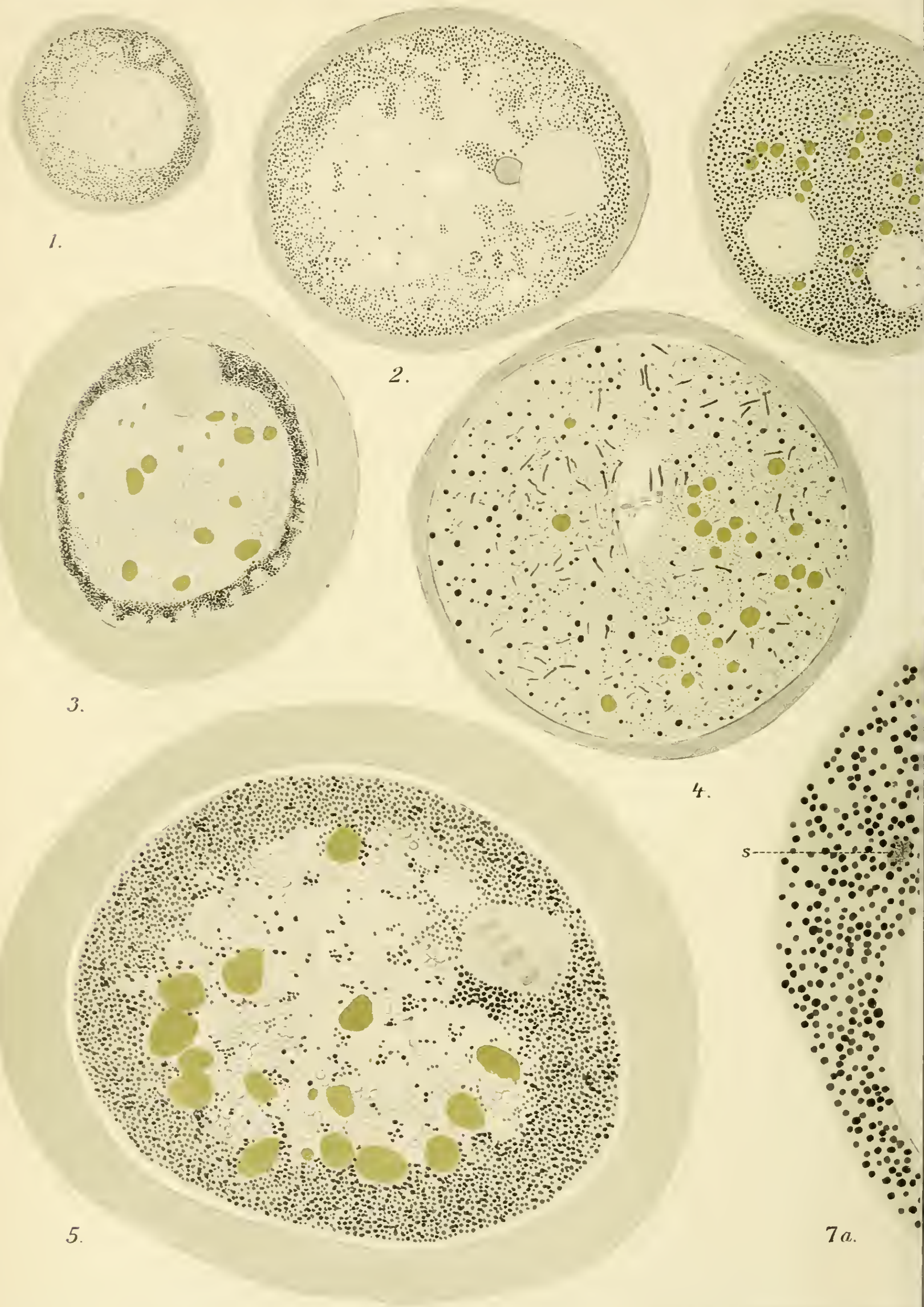
Fig. 69. 61 Chrs.

Fig. 70. 60 Chrs.

Fig. 71 a u. b. Schwesterzellen. Links 52, rechts 50 Chrs.

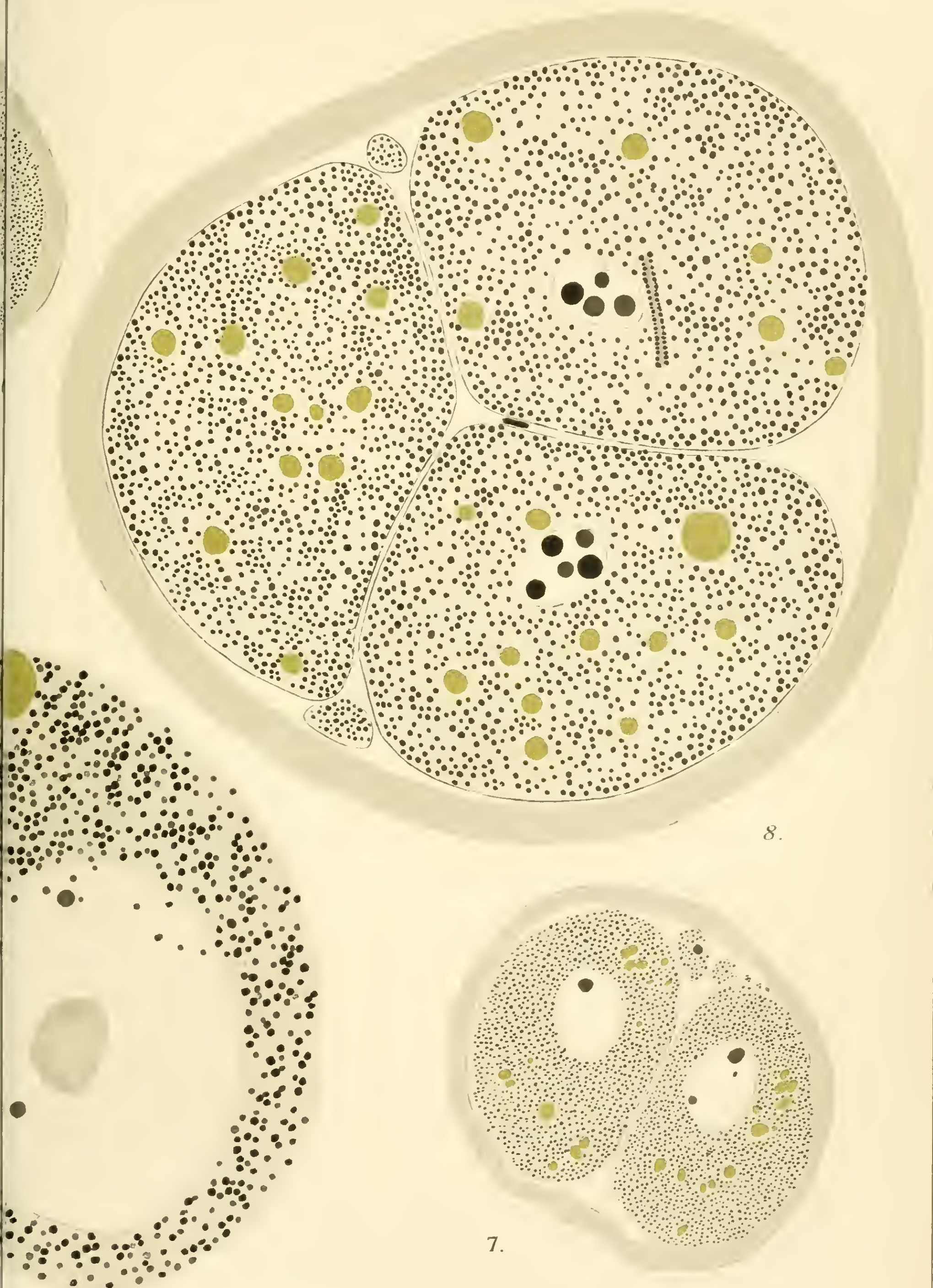


Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.



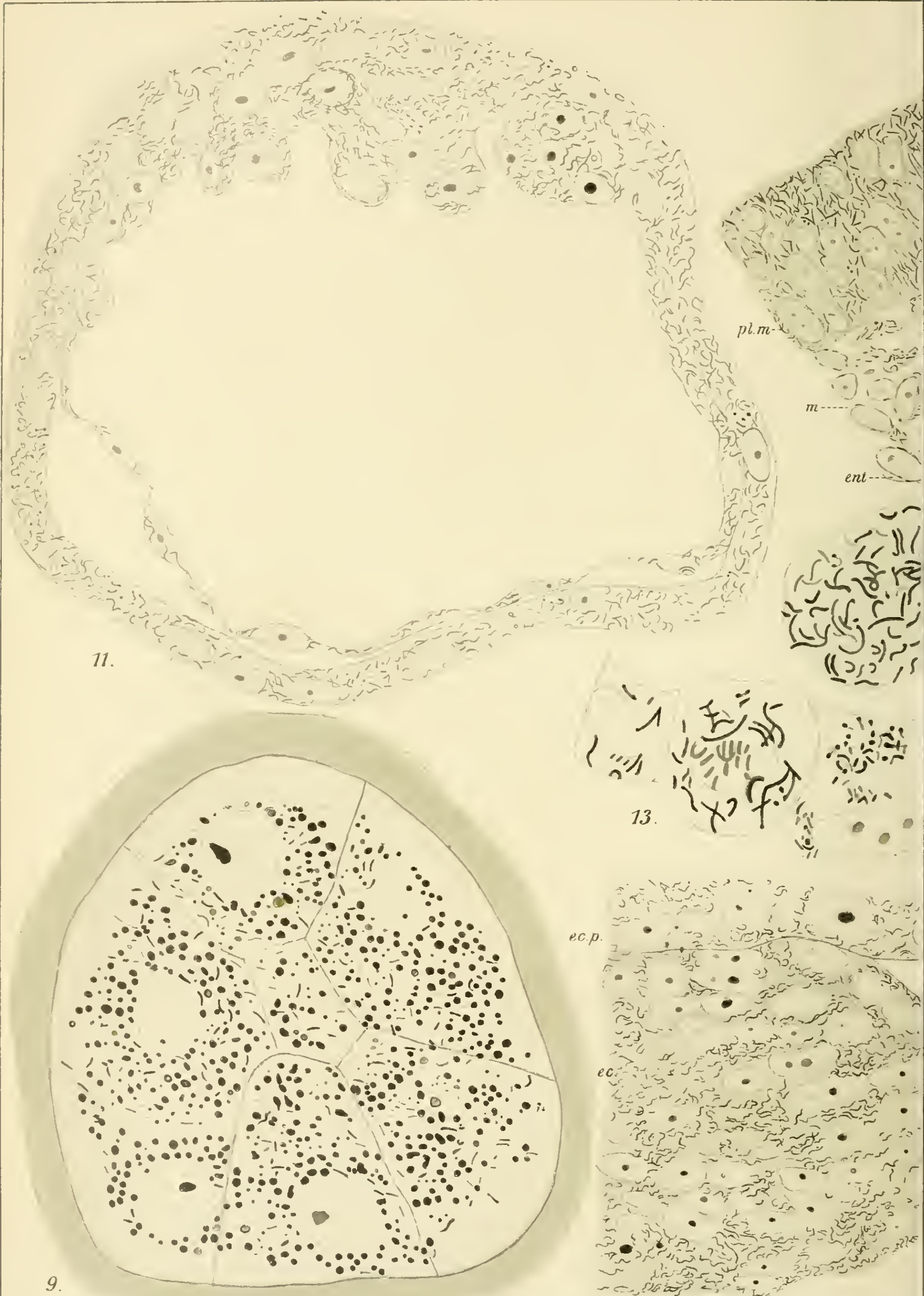
Levi del.

Verlag von Wilhelm Eng



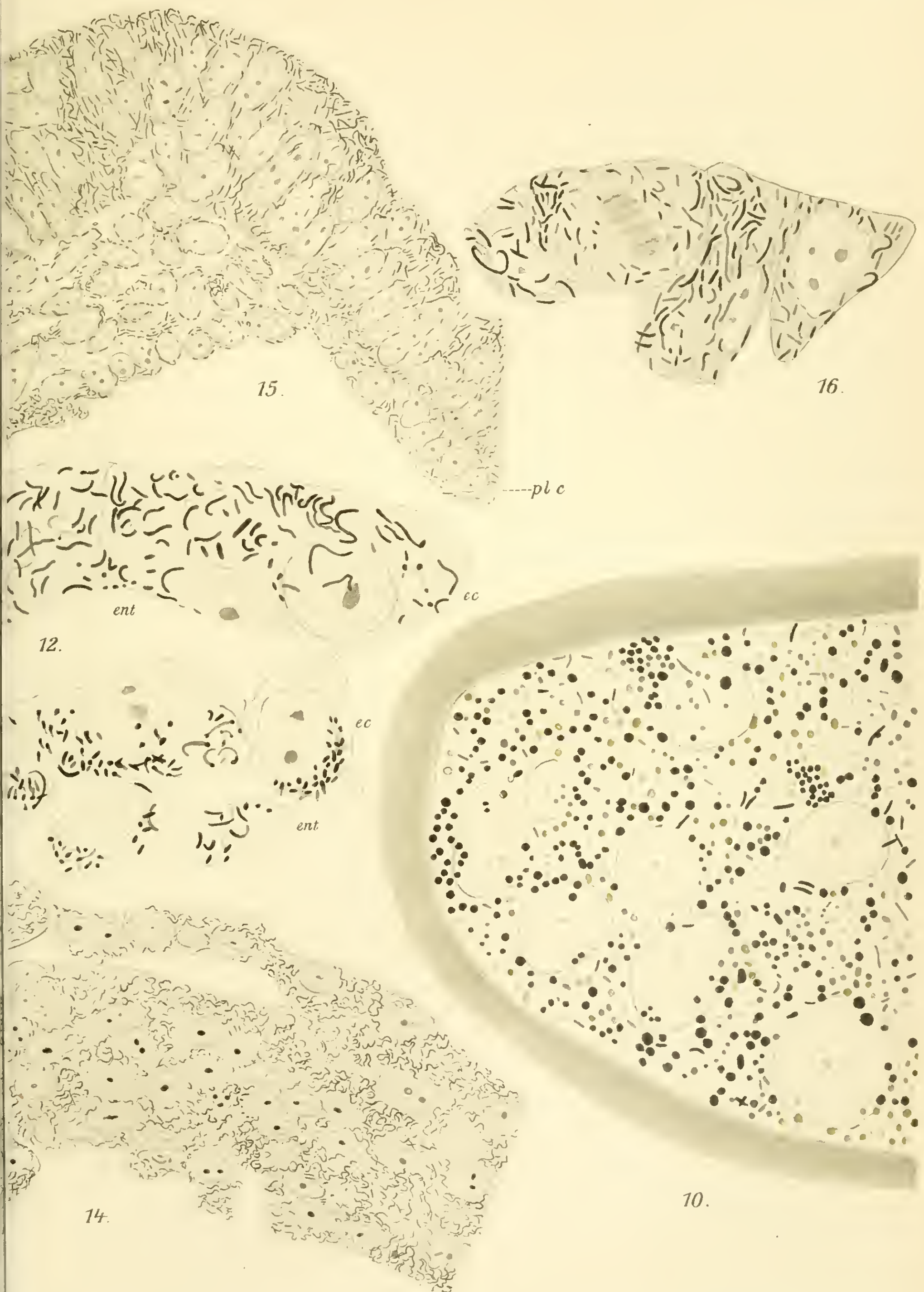
ann in Leipzig.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



Levi del.

Verlag von Wilhelm Eng



...ann in Leipzig

Lith Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

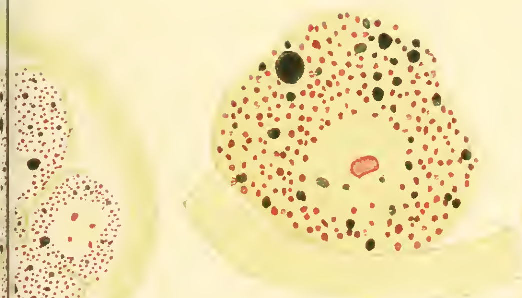

cr.g.
ec.
17.
c.d.m.
c.d.m.
18.
ec.
20.



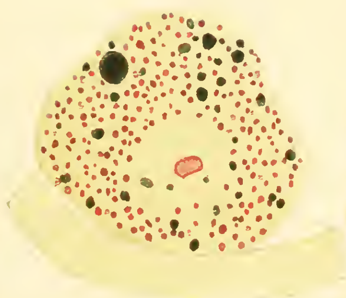
19.



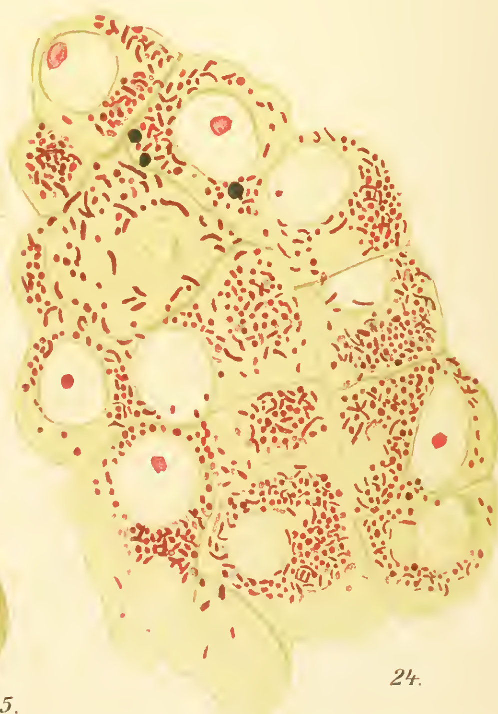
21.



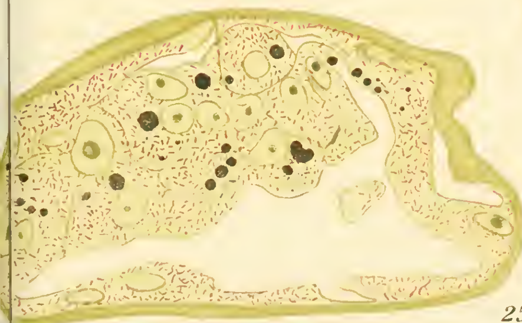
22.



23.



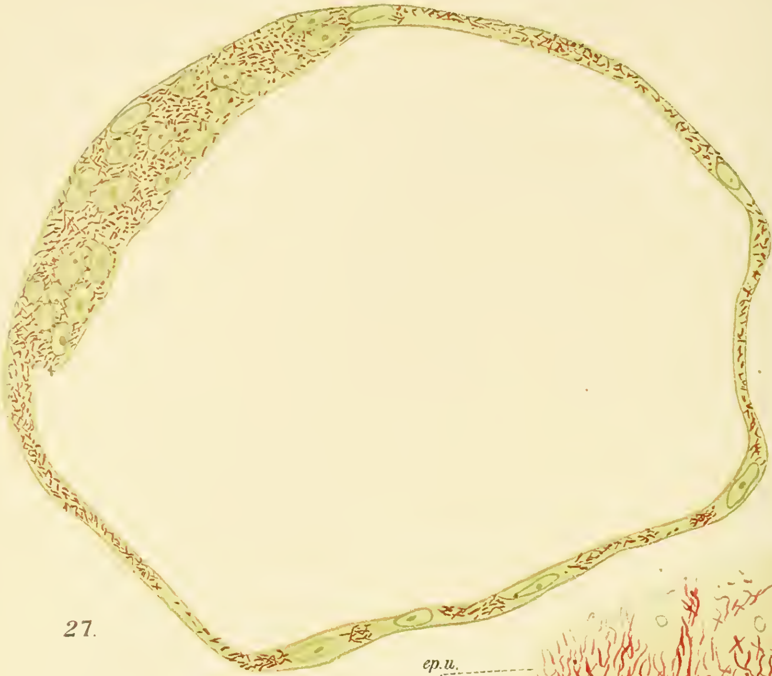
24.



25.

…ann in Leipzig.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



ep.u.

p

ec

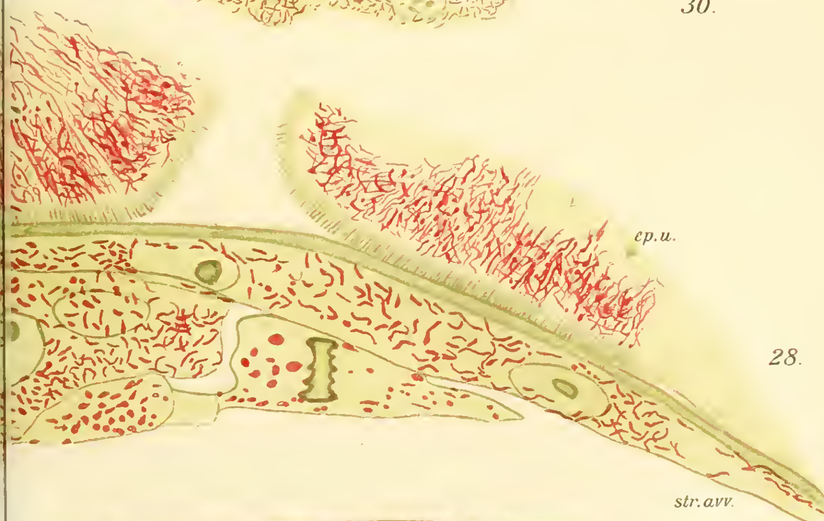
ent

29.

Levi del.

Verlag von Wilhelm Eng





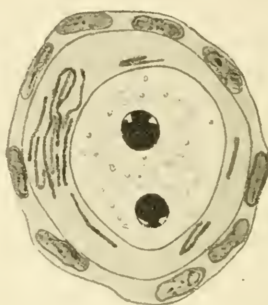


...nn in Leipzig.

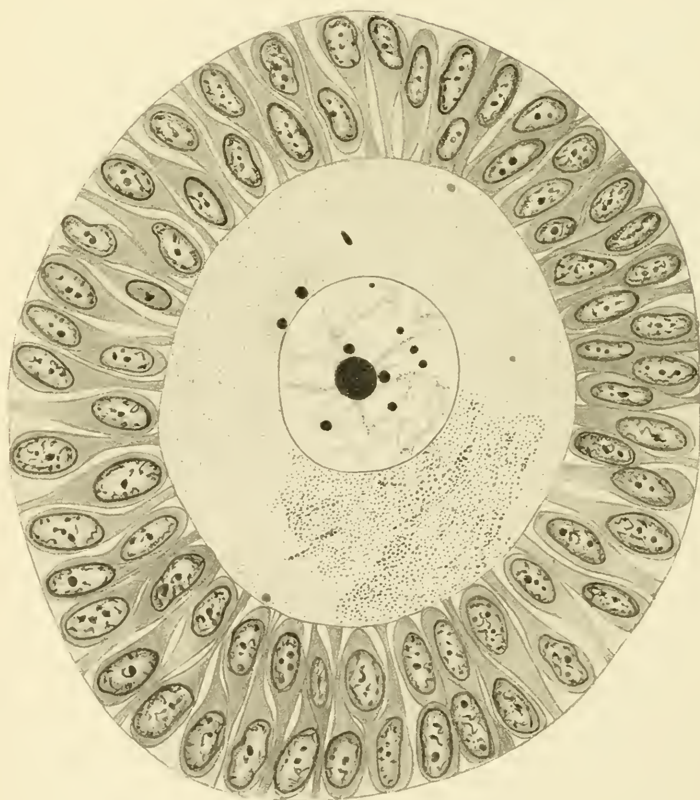
Lith. Anst. v. Johannes A...ndt, Jena.



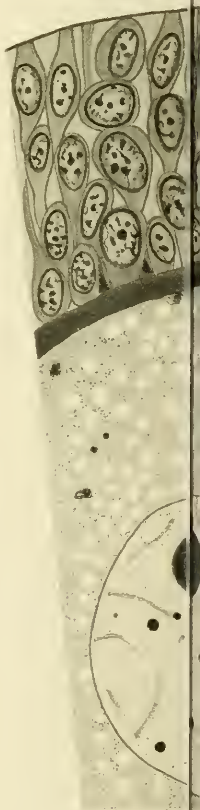
1.



2.



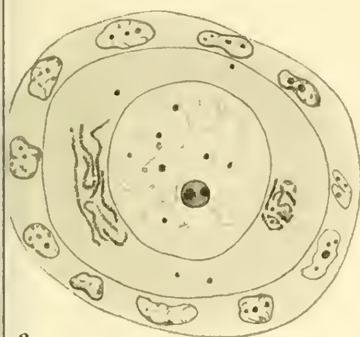
5.



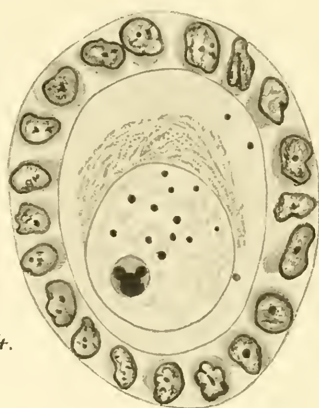
7.

Monterosso del.

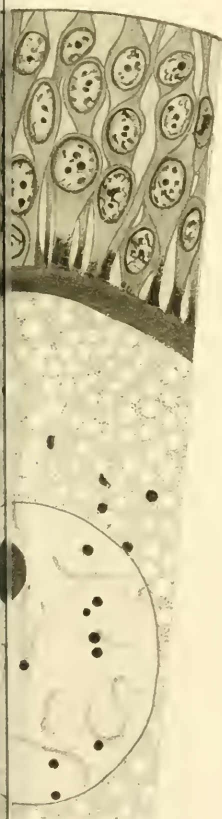
Verlag von Wilhelm Eng

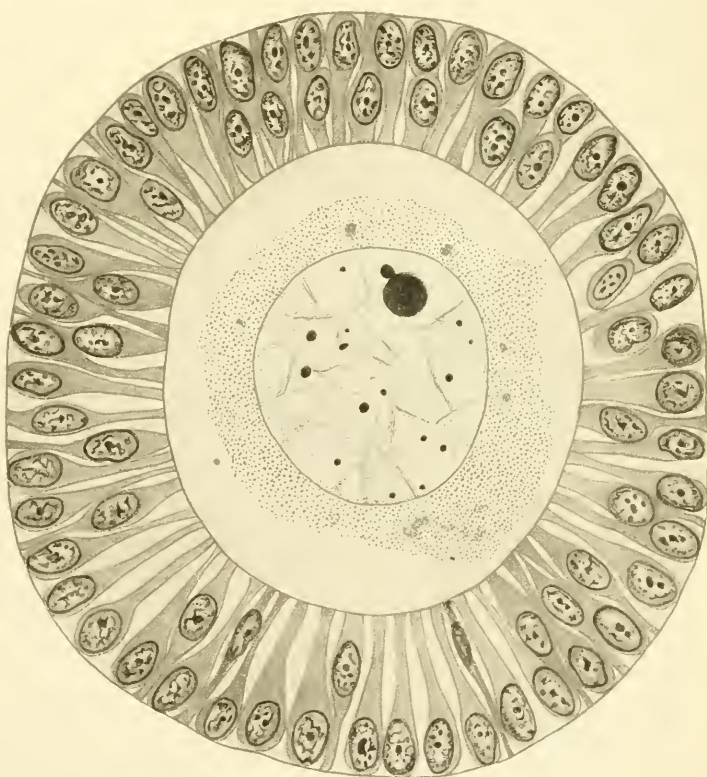


3.



4.

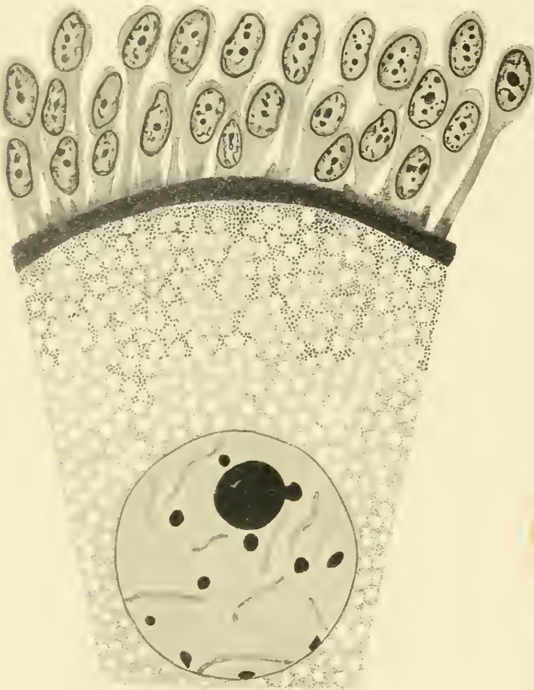




6.

...nn in Leipzig

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



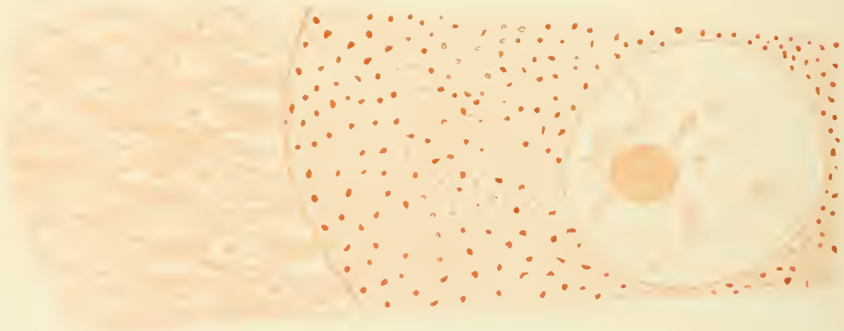
8.



9.



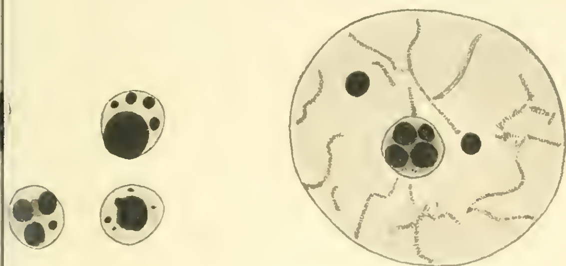
12.



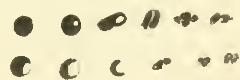
13.

Monterosso del.

Verlag von Wilhelm Engelmann



10.

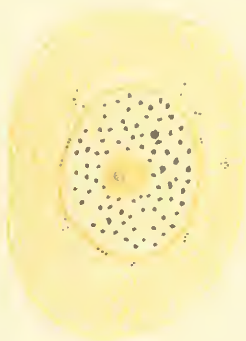


11.

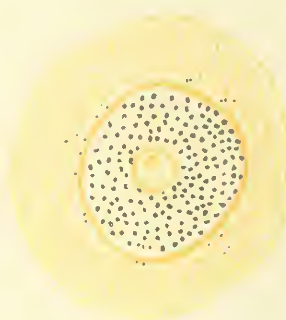




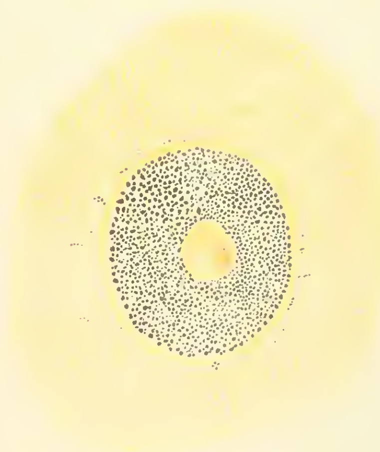
14.



15.



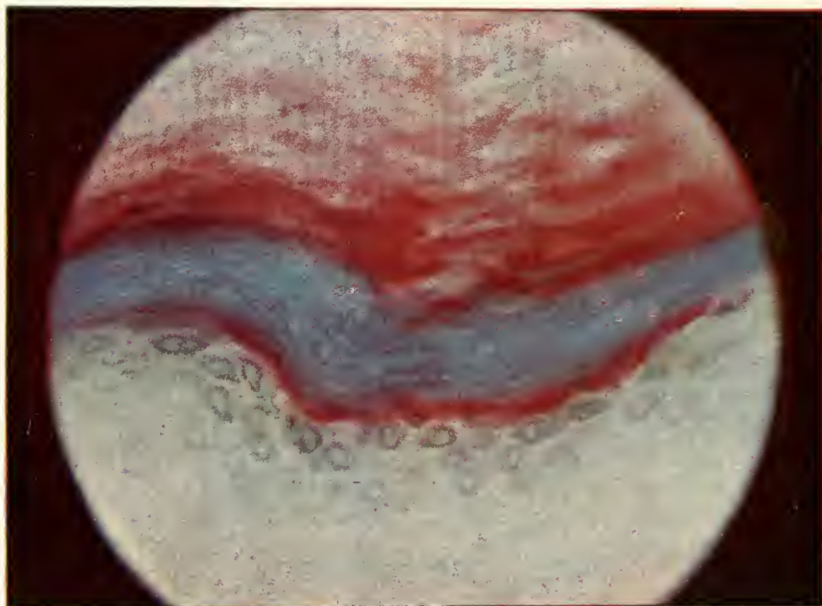
16.



17.

...ann in Leipzig

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



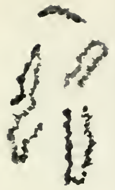
Martinotti.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

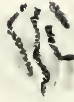

1


2


3


4

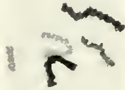

9

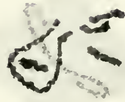

10



11


15


16


17

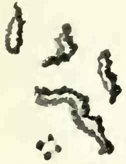

18

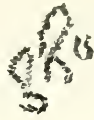

23


22


24


25

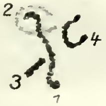




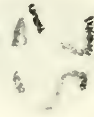




5 6 7 8







12 13 14





19 20



21







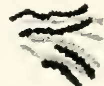


28 31









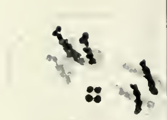
27 29 30 32

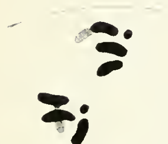
ngelmann in Leipzig.


33


34


35

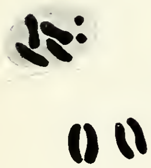

36

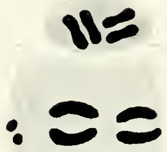

40


41


42


43


46


47


48



52



53


54



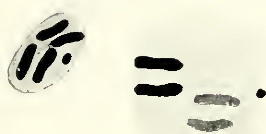
37



38



39



44



45







50



51

49







55



56

…ngelmann in Leipzig.



57



58



59



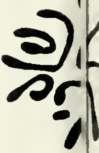
60



63



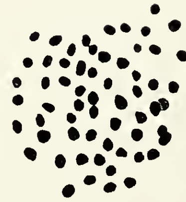
65



66



64



69






62

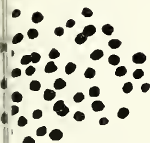
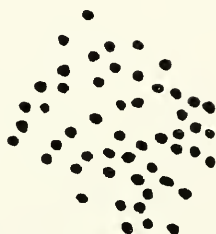
61





67

68


70

71a

71b

…gelmann in Leipzig.

Inhalt des 4. Heftes.

Hundertelfter Band, 4. Heft

Seite 445—647. Mit 90 Figuren im Text und 2 Tafeln. Gr. 8. ℳ 13.—

Inhalt: Erich Brückner, Beitrag zur Kenntnis von Perigonismus Citaritis Weismann und Gemmaria implexa var. neapolitana Hargitt. Mit 24 Figuren im Text und Tafel VIII und IX. — Ernst Schmalz, Zur Morphologie des Nervensystems von Helix pomatia L. Mit 16 Figuren im Text. — Wilhelm Fernau, Die Niere von Anodonta cellensis Schröt. III. Teil. Mit 50 Figuren im Text.

Hundertzwölfter Band, 1. Heft

Seite 1—238. Mit 86 Figuren im Text und 6 Tafeln. Gr. 8. ℳ 17.—

Inhalt: Henrik Strindberg, Zur Kenntnis der Hymenopteren-Entwicklung. Vespa vulgaris nebst einigen Bemerkungen über die Entwicklung von Trachusa serratulae. Eine embryologische Untersuchung. Mit 8 Figuren im Text und Tafel I—II. — A. W. Jakubski, Studien über das Gliagewebe der Mollusken. II. Teil. Cephalopoda. Mit Tafel III und IV. — Fritz Künneth, Die Stigmenversorgung des Insektenthorax. Mit Tafel V. — Richard Krause, Beitrag zur Kenntnis der Hemistominen. Mit 78 Figuren im Text und Tafel VI.

Hundertzwölfter Band, 2. Heft

Seite 239—432. Mit 58 Figuren im Text und 6 Tafeln. Gr. 8. ℳ 16.—

Inhalt: Erich Geipel, Beiträge zur Anatomie der Leuchtorgane tropischer Käfer. Mit 23 Figuren im Text und Tafel VII und VIII. — R. Vogel, Beitrag zur Kenntnis des Baues und der Lebensweise der Larve von Lampyris noctiluca. Mit 35 Figuren im Text und Tafel IX—XII.

Hundertzwölfter Band, 3. Heft

Seite 433—571. Mit 55 Figuren im Text. Gr. 8. ℳ 9.—

Inhalt: Fr. Wetekamp, Bindegewebe und Histologie der Gefäßbahnen von Anodonta cellensis. Mit 40 Figuren im Text. — Olof D. Hammarsten, Zur Entwicklungsgeschichte von Halicryptus spinulosus (von Siebold). Mit 15 Figuren im Text.

Hundertzwölfter Band, 4. Heft

Seite 572—718. Mit 25 Figuren im Text und 8 Tafeln. Gr. 8. ℳ 15.—

Inhalt: C. Janicki, Untersuchungen an parasitischen Flagellaten. II. Teil. Die Gattungen Devescovina, Parajoenia, Stephanonympha, Calonympha. — Über den Parabasalapparat. — Über Kernkonstitution und Kernteilung. Mit 17 Figuren im Text und Tafel XIII—XVIII. — Otto Kühne, Der Tracheenverlauf im Flügel der Koleopterennymphe. Ein Beitrag zur Entwicklung und systematischen Beurteilung des Käferflügelgeäders. Mit 8 Figuren im Text und Tafel XIX und XX.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.


New York Botanical Garden Library
3 5185 00258 9628

